

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Sección de Biológicas. inéditas**



**TESIS DOCTORAL**

**La obtención de la aloplasmia de *Triticum Turgidum* L.  
sobre citoplasma de *T. Timopheevi* Zhuk. y el genomio B de  
los trigos españoles**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Nicolás Jouve de la Barreda**

**Madrid, 2015**



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5310044622

300  
obt

LA OBTENCION DE LA ALOPLASMA DE TRITI-  
CUM TURGIDUM L. SOBRE CITOPLASMA DE T.  
TIMOPHEEVI ZHUK. Y EL GENOMIO B DE LOS  
TRIGOS ESPAÑOLES



R. 28.133

NICOLAS JOUVE DE LA BARREDA

A mis padres

Al Psor. Dr. D. Enrique Sánchez-Monge y Parellada, Director de esta tesis. Con sus enseñanzas se despertó y desarrolló mi vocación hacia la genética; con sus orientaciones se centró mi interés hacia la citogenética de los cereales; sus consejos orientaron mi especialización e impulsaron mis estudios; su constante ayuda hizo posible llevar a buen término este trabajo. Quiero agradecerle de modo muy especial su disponibilidad constante, tanto para proporcionarme el material de investigación como para ayudarme a subsanar todas las dificultades surgidas.

Al Psor. Dr. D. Juan Ramón Lacadena Calero, por sus sugerencias y enseñanzas que contribuyeron de forma decisiva en la elaboración de este trabajo.

Al Psor. Dr. D. Francisco García Olmedo, Catedrático de Bioquímica de la E.T.S.I. Agrónomos de Madrid, y a sus colaboradores, por su ayuda y consejos en los aspectos bioquímicos de la androesterilidad.

A mis compañeros del Laboratorio de la Cátedra de Genética de la E.T.S.I. Agrónomos de Madrid, y muy especialmente a la Srta. Dña. Consuelo Frejo Espadas, por su desinteresada colaboración en la transcripción a máquina del manuscrito.

Al personal obrero de los Campos de Prácticas de la E.T. S.I. Agrónomos de Madrid, por sus cuidados del material sembrado en dichas instalaciones.

A la Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación del Ministerio de Educación y Ciencia, por la concesión de una Beca para "Formación de Personal Investigador", con la que se inició este trabajo.

Al Departamento Nacional de Mejora de Plantas (antes C. de Mejora del Maíz) del I.N.I.A. en cuyas instalaciones y servicios se comenzó el trabajo, y de cuya Biblioteca de Separatas del Psor. SANCHEZ-MONGE obtuve un tanto por ciento muy elevado de la información bibliográfica que necesité.

Quiero por último, agradecer de un modo muy especial la inestimable ayuda material y moral de mi esposa, Dña. María Consuelo Soler Llinares, quien me impulsó y animó en todo momento y quien contribuyó en modo decisivo a salvar las dificultades que se presentaron.

## INDICE GENERAL

	<u>Pág.</u>
I.- INTRODUCCION . . . . .	1
1.- SOBRE LA CLASIFICACION ARTIFICIAL Y NATURAL - DEL TRIGO . . . . .	1
2.- SOBRE EL ORIGEN DE LOS TRIGOS . . . . .	10
3.- CONSTITUCION GENOMICA DE LOS TRIGOS TETRAPLOI- DES . . . . .	18
4.- SOBRE LAS CARACTERISTICAS DE LOS TRIGOS DUROS - ESPAÑOLES . . . . .	23
5.- SOBRE LAS CARACTERISTICAS DEL TRITICUM TIMOPHE EVI ZHUK. . . . .	25
6.- SOBRE LA OBTENCION DE FORMAS ALOPLASMICAS Y - SUS EFECTOS . . . . .	27
7.- SOBRE LAS CAUSAS DE LA ANDROESTERILIDAD . . .	33
8.- PUNTOS A DESARROLLAR EN ESTE TRABAJO . . . . .	39
II.- MATERIAL Y METODOS . . . . .	42
1.- MATERIAL . . . . .	42
2.- METODOS . . . . .	50
2.1.- METODOS DE CULTIVO . . . . .	50
2.2.- CRUZAMIENTOS . . . . .	50
2.3.- METODOS DE OBSERVACION CITOLOGICA . . . . .	51
2.3.1.- RECuento CROMOSOMICO . . . . .	51
2.3.2.- OBSERVACION DEL APAREAMIENTO MEIOTICO . .	53
2.4.- METODOS DE OBSERVACION DE LA FERTILIDAD . .	55
2.4.1.- FERTILIDAD DEL POLEN . . . . .	55
2.4.2.- FERTILIDAD FLORAL . . . . .	56

2.5.- METODOS DE OBSERVACION MORFOLOGICA . . . . .	56
2.6.- METODOS DE OBSERVACION HISTOLOGICA . . . . .	57
2.7.- METODOS DE OBSERVACION DEL CONTENIDO PROTEI- NICO EN ANTERAS . . . . .	61
III.- RESULTADOS . . . . .	64
1.- CITOLOGIA . . . . .	64
1.1.- RECUESTO CROMOSOMICO . . . . .	64
1.2.- APAREAMIENTO EN LA PRIMERA METAFASE (MI) DE LA MEIOSIS . . . . .	65
1.2.1.- APAREAMIENTO MEIOTICO DURANTE LOS RETROCRU ZAMIENTOS DE SUSTITUCION COMO INDICE DE LA CONVERSION HACIA LOS TRIGOS CULTIVADOS . .	65
1.2.1.1.- ET1 x BLANCO DE CORELLA <sup>n</sup> . . . . .	66
1.2.1.2.- ET1 x ENANO DE JAEN <sup>n</sup> . . . . .	68
1.2.1.3.- ET1 x RUBIAL DE LIEBANA <sup>n</sup> . . . . .	71
1.2.1.4.- ET1 x RUBIO DE CORDOBA <sup>n</sup> . . . . .	74
1.2.1.5.- ET1 x SOLACAMBRE <sup>n</sup> . . . . .	76
1.2.1.6.- ET82 x ALONSO <sup>n</sup> . . . . .	80
1.2.1.7.- ET82 x ALONSO PEREZ JURADO <sup>n</sup> . . . . .	83
1.2.1.8.- ET82 x FARTO RUBIO <sup>n</sup> . . . . .	85
1.2.1.9.- ET82 x LAS PALMAS 7 <sup>n</sup> . . . . .	88
1.2.1.10.- ET82 x RECIO DE BAZA <sup>n</sup> . . . . .	91
1.2.1.11.- ET82 x RUBIO DE CORDOBA <sup>n</sup> . . . . .	93
1.2.1.12.- ET82 x RUBION DE HIGUERUELA <sup>n</sup> . . . . .	96
1.2.2.- APAREAMIENTO HOMEOLOGO ENTRE LOS GENOMIOS B y B'. MODELOS MATEMATICOS . . . . .	99
1.2.2.1.- APAREAMIENTO ENTRE B y B' EN EL HIBRIDO.	110
1.2.2.2.- APAREAMIENTO ENTRE B y B' EN LA PRIMERA GENERACION DE RETROCRUZAMIENTO . . . . .	113

1.2.2.3.- APAREAMIENTO ENTRE B y B' EN LA SEGUNDA - GENERACION DE RETROCRUZAMIENTO . . . . .	115
1.2.2.4.- APAREAMIENTO ENTRE B y B' EN LA TERCERA GE- NERACION DE RETROCRUZAMIENTO . . . . .	118
1.2.2.5.- APAREAMIENTO ENTRE B y B' EN LA CUARTA GE- NERACION DE RETROCRUZAMIENTO . . . . .	119
2.- MORFOLOGIA . . . . .	121
2.1.- ET1 x BLANCO DE CORELLA <sup>n</sup> . . . . .	123
2.2.- ET1 x ENANO DE JAEN <sup>n</sup> . . . . .	124
2.3.- ET1 x RUBIAL DE LIEBANA <sup>n</sup> . . . . .	125
2.4.- ET1 x RUBIO DE CORDOBA <sup>n</sup> . . . . .	125
2.5.- ET1 x SOLACAMBRE <sup>n</sup> . . . . .	126
2.6.- ET82 x ALONSO <sup>n</sup> . . . . .	126
2.7.- ET82 x ALONSO PEREZ JURADO <sup>n</sup> . . . . .	127
2.8.- ET82 x FARTO RUBIO <sup>n</sup> . . . . .	127
2.9.- ET82 x LAS PALMAS 7 <sup>n</sup> . . . . .	128
2.10.- ET82 x RECIO DE BAZA <sup>n</sup> . . . . .	128
2.11.- ET82 x RUBIO DE CORDOBA <sup>n</sup> . . . . .	129
2.12.- ET82 x RUBION DE HIGUERUELA <sup>n</sup> . . . . .	129
3.- FERTILIDAD . . . . .	144
3.1.- FERTILIDAD DEL POLEN . . . . .	144
3.1.1.- CITOPLASMA ET1 . . . . .	145
3.1.2.- CITOPLASMA ET82 . . . . .	146
3.2.- FERTILIDAD FLORAL . . . . .	147
3.2.1.- CITOPLASMA ET1 . . . . .	147
3.2.2.- CITOPLASMA ET82 . . . . .	147
4.- HISTOGENESIS DE LAS ANTERAS . . . . .	149
4.1.- MATERIAL ANDROFERTIL . . . . .	149
4.2.- MATERIAL ANDROESTERIL . . . . .	150
5.- CONTENIDO PROTEINICO DE LAS ANTERAS . . . . .	156

5.1.- MATERIAL ANDROFERTIL . . . . .	157
5.2.- MATERIAL ANDROESTERIL . . . . .	157
IV.- DISCUSION . . . . .	163
1.- CITOLOGIA . . . . .	163
1.1.- RECUENTO CROMOSOMICO . . . . .	163
1.2.- APAREAMIENTO EN LA PRIMERA METAFASE DE LA MEIO SIS . . . . .	167
1.2.1.- CARACTERISTICAS COMUNES A TODO EL MATERIAL - ESTUDIADO . . . . .	167
1.2.1.1.- PRESENCIA DE UNIVALENTES, TRIVALENTES y - MULTIVALENTES . . . . .	167
1.2.1.2.- HETEROGENEIDAD DE LOS PATRONES DE ASOCIA- CION . . . . .	170
1.2.1.3.- DIFERENCIAS EN LA CONFIGURACION DE LOS BI- VALENTES . . . . .	173
1.2.2.- CARACTERISTICAS PROPIAS DE CADA GENERACION - DE RETROCRUZAMIENTO . . . . .	175
1.2.2.1.- APAREAMIENTO EN EL HIBRIDO T. TIMOPHEEVI - ZHUK. x T. TURGIDUM L. . . . .	175
1.2.2.2.- APAREAMIENTO EN LAS GENERACIONES DE RETRO- CRUZAMIENTO . . . . .	179
1.3.- APAREAMIENTO HOMEOLOGO ENTRE LOS GENOMIOS B y B' . . . . .	181
2.- MORFOLOGIA DURANTE LOS RETROCRUZAMIENTOS DE SUS- TITUCION . . . . .	187
3.- FERTILIDAD . . . . .	191
4.- CAUSAS DE LA ANDROESTERILIDAD . . . . .	192
4.1.-CITO-HISTOLOGIA DEL DESARROLLO DE LAS ANTERAS .	192



	<u>Pág.</u>
4.2.- CONTENIDO PROTEINICO DE LAS ANTERAS . . . . .	194
4.3.- GRADO DE ANDROESTERILIDAD ALCANZADA . . . . .	194
V.- CONCLUSIONES . . . . .	197
VI.- BIBLIOGRAFIA . . . . .	200

## I.- INTRODUCCION

### 1.- SOBRE LA CLASIFICACION ARTIFICIAL Y NATURAL DEL TRIGO

La tribu TRITICEAE Dumort. (= HORDEAE), fue descrita en primer lugar por DUMORTIER en 1823, quien en una sinopsis de la familia GRAMINEAE hacía una revisión sobre la clasificación en géneros y especies. La tribu TRITICEAE Dumort. tiene las subtribus TRITICINAE, que es la subtribu tipo, y la subtribu HORDEINAE. En la primera se incluye el género tipo de la tribu, Triticum L. y los géneros Aegilops L., Secale L., Agropyron Gaertn. y Haynaldia Schur. En la subtribu HORDEINAE, NEVSKI (1934) incluyó el género Hordeum L. y otros.

Desde la clasificación artificial de LINNEO que incluía siete especies en el género Triticum L. y la descripción posterior de nuevas especies por DESFONTAINES, HOST, BAYLE-BARELLE, LAGASCA, MAZZUCATO, SCHUBLER, ZHUKOWSKY, etc., el género Triticum L. quedó representado por una gran cantidad de especies de valor desigual desde un punto de vista linneano, citológico y citogenético.

La revisión del género Triticum L. comenzó con ALEFELD en 1846 quien hizo una clasificación artificial basada en las características apreciables a simple vista, color de la espiga, color del grano, etc., la cual quedó desfasada tras las investigaciones de NILSON-EHLE (1911) sobre la herencia de caracteres cuantitativos y concretamente la pigmentación.

En 1913 SCHULZ presentó tres grupos denominados EINKORN, ENMER y DINKEL, basándose en características morfológicas. Es

tos grupos incluían:

EINKORN, los trigos tipo monococcum cultivados y silvestres.

EMMER, T. dicoccoides Körn, T. dicoccum Schrank, T. durum Desf., T. turgidum L. y T. polonicum L.

DINKEL, T. spelta L., T. compactum Host. y T. vulgare Host.

Con SAKAMURA en 1918 y NIKOLAJEVA en 1924 entró en juego el estudio cariológico de las especies de trigo y se reafirmó la agrupación de SCHULZ al encontrar que el número de cromosomas somáticos para los grupos EINKORN, EMMER y DINKEL era de 14, 28 y 42, respectivamente. Los estudios sobre los centros de origen de las especies de VAVILOV (1926) también corroboraron como natural esta agrupación.

FLAKSBERGER en 1929 revisó de nuevo la clasificación del género Triticum L. que quedó constituida por tres secciones:

I.- MONOCOCCA (sin. EINKORN, SCHULZ, consp. monococcum FLAKSB.).

II.- DICOCCOIDEA (sin. EMMER, SCHULZ, consp. eu-dicoccoides FLAKSB.).

III.- SPELTOIDEA (sin. DINKEL, SCHULZ, consp. speltoides FLAKSB.).

Desde 1929 fueron muchos los trabajos que se realizaron para tratar de aclarar las afinidades filogenéticas de unas especies y otras. Los trabajos sobre citología, genética y - citogenética de los trigos, cebadas y centenos pusieron al - descubierto los errores cometidos en su tratamiento taxonómi- co. Incluso surgió la confusión en el uso de la nomenclatura científica como consecuencia de la incorrecta aplicación del Código Internacional de Nomenclatura Botánica y del Código - Internacional de Nomenclatura para las Plantas Cultivadas.

La gran diversidad de formas del trigo según PERCIVAL (1921), como reconoció posteriormente BOWDEN (1959), se debía a la producción de numerosos cultivares por la práctica agrícola durante cientos de años y a la aplicación de métodos genéticos de mejora en los últimos años.

MAC KEY en 1954 y 1966 insistió en la necesidad de simplificar al máximo la clasificación del trigo especialmente en lo relativo a las formas alohexaploides.

STEBBINS (1956) discutió la separación dentro de la tri- bu TRITICINAE de formas híbridas intergenéricas o interespe- cíficas y criticó de absurdo el mantenimiento de Aegilops L. y Triticum L. como géneros separados, basándose en la eviden- cia citogenética ya acumulada tras los múltiples trabajos de hibridación intergenérica y los estudios sobre la constitución genómica de las especies de trigo.

JAKUBZINER en el "First International Wheat Genetics - Symposium" que tuvo lugar en Winnipeg en 1958 presentó, aun- que no acudió posteriormente a la reunión, una clasificación

compuesta por tres especies diploides, doce alotetraploides, seis alohexaploides y un autoalohexaploide.

BOWDEN (1959) en la revisión más profunda y aceptada - de la clasificación taxonómica de los trigos, cebadas y centenos, fusionó los géneros Aegilops L. y Triticum L., pasando las especies del primero al segundo, que incluiría a partir de entonces las especies de trigos diploides, alotetraploides y alohexaploides del género Triticum L. y las diploides, alotetraploides y alohexaploides originadas mediante hibridación interespecífica que anteriormente fueron colocadas en el género Aegilops L.

La clasificación de BOWDEN para el género Triticum L. incluye:

I.- 10 especies diploides (2n = 14):

1. Triticum monococcum L. (sin. T. boeoticum Boiss, T. thaoudar Reut. y T.aegilopoides (Link.) Bal.).
2. Triticum bicornne Forsk.
3. Triticum speltoides (Tausch) Gren. (sin. A. speltoides Tausch.).
4. Triticum comosum (Sibth. & Sm.) Richter.
5. Triticum uniaristatum (Vis.) Richter (sin. A. uniaristata Vis.).
6. Triticum longissimum (Schweinf. & Muschl.) Bowden, (sin. A. longissima Schweinf. & Muschl.).
7. Triticum umbellulatum (Zhuk.) Bowden (sin. A. umbellulata Zhuk.).

8. Triticum tripsacoides (Jaub. & Spach.) Bowden (sin. A. tripsacoides Jaub. & Spach.).
9. Triticum dichasians (Zhuk.) Bowden (sin. A. caudata L., T. caudatum (L.) Godr. & Gren.).
10. Triticum aegilops P. Beauv. (sin. A. squarrosa L., T. squarrosus (L.) Raspail, A. tauschii Cosson, T. tauschii (Coss.) Schmalh.).

II.- a) Alopoliploides de origen híbrido ( $2n = 28$ ).- Se integran aquí una especie de trigo alotetraploide y tres variedades botánicas:

T. turgidum L. En esta especie incluyó BOWDEN - todas las especies de la sección DICOCCOIDEA de - FLAKSBERGER más las consideradas como tal por JAKUB ZINER, entre ellas T. timopheevi Zhuk. y T. araratium Jakubz. que quedaron reducidas al rango de cultivares o de variedades botánicas. Así pues para BOWDEN la especie T. turgidum L. es la única tetraploide legítima y quedaba compuesta por ocho grupos de cultivares y tres variedades botánicas:

1. Los ocho grupos de cultivares son los siguientes:

- a) turgidum.
- b) polonicum (sin. T. polonicum L.).
- c) dicoccon (sin. T. dicoccon Schrank, T. spelta L.).
- d) durum (sin. T. durum Desf., T. dicoccoides Körn, T. pyramidale Perc.).
- e) carthlicum (sin. T. carthlicum Nevski, T. persicum Vav. ex Zhuk.).

- f) palaeocolchicum (sin. T. palaeocolchicum Men., T. dicoccum Schrank var. chramlicum Supat.).
- g) turanicum (sin. T. turanicum Jakubz., T. dicoccoi-  
des Körn. raza orientale Perc., T. orientale M. -  
Bieb.).
- h) aethiopicum (sin. T. aethiopicum Jakubz., T. aby-  
ssinicum (Vav.) Flaksb.).

2. Triticum turgidum L. emend. var. dicoccoides (Körn)  
Bowden (sin. T. dicoccoides Körn., T. vulgare Vill.  
var. dicoccoides Körn.).

3. Triticum turgidum L. emend. var. Timopheevi (Zhuk.)  
Bowden (sin. T. dicoccum Schrank var. Timopheevi -  
Zhuk., T. Timopheevi (Zhuk.) Zhuk., T. dicoccum di-  
coccoides Körn. var. Timopheevi Zhuk.). Compuesta -  
por dos formas:

- a) f. Timopheevi, que es la forma típica, descrita -  
por ZHUKOVSKY en 1928 como una nueva especie endé-  
mica del Oeste de Georgia.
- b) f. Zhukovskyi (Men. & Er.) Bowden (sin. T. Zhukovs-  
kyi Men. & Er.), que se trata de un autoalohexa-  
ploide ( $2n = 42$ ) encontrado en el mismo hábitat -  
que la forma Timopheevi.

4. Triticum turgidum L. emend. var. tumanianii (Jakubz.)  
Bowden (sin. T. dicoccoides Körn. subsp. armeniaceum  
Jakubz. var. tumanianii Jakubz., T. dicoccoides Körn.  
subsp. armeniaceum Jakubz. var. Nachitchevanicum Jakubz.,  
T. araraticum Jakubz., T. armeniaceum (Jakubz.) Muku-  
shina).

II.- b) Formas cultivadas alohexaploides de origen híbrido

(2n = 42).- Triticum x aestivum L. emend., con seis cultivares:

1. aestivum (sin. T. aestivum L., T. vulgare Host. - var. erythrospermum Körn.).
2. spelta (sin. T. spelta L.).
3. compactum (sin. T. compactum Host.).
4. sphaerococcum (sin. T. dicoccoides Körn. raza T. sphaerococcum Perc.).
5. macha (sin. T. macha Dek. & Men.).
6. vavilovii (sin. T. vavilovii Jakubz., T. vulgare Vill. compositum Tum. var. vavilovii Tum.).

II.- c) Alopoliploides de origen híbrido interespecífico

(2n = 28 ó 42).- Se incluyen diez especies:

1. Triticum ovatum (L.) Raspail (sin. A. ovata L.).
2. Triticum triaristatum (Willd.) Godr. & Gren. (sin. A. triaristata Willd.).
3. Triticum kotschyi (Boiss.) Bowden (sin. A. kotschyi Boiss.).
4. Triticum triunciale (L.) Raspail (sin. A. triuncialis L.).
5. Triticum cylindricum Ces. (sin. A. cylindrica Host.).
6. Triticum macrochaetum (Shuttl. & Huet) Richter (sin. A. macrochaeta Shuttl. & Huet., A. biuncialis Vis.).



7. Triticum crassum (Boiss.) Aitch. & Hemsl. (sin. -  
A. crassa Boiss.).
8. Triticum turcomanicum (Rosh.) Bowden (sin. A. tur-  
comanica Rosh.).
9. Triticum juvenale Thellung (sin. A. juvenalis (The  
llung) Eig).
10. Triticum ventricosum Ces. (sin. A. ventricosa Tausch.  
A. squarrosa Willd.).

De estas diez especies, todas son alotetraploides ( $2n =$   
 $= 28$ ), originadas por hibridación natural entre especies di-  
ploides, a excepción de T. juvenale Thellung. que es un alo-  
hexaploide ( $2n = 42$ ) y las razas hexaploides de T. triarista-  
tum (Willd.) Godr. & Gren. y T. crassum (Boiss.) Aitch. & Hemse.

La clasificación de BOWDEN es la más consistente por la  
extensa fuente de información utilizada en su planteamiento.  
BOWDEN recopiló durante mucho tiempo casi toda la literatura  
escrita sobre los géneros Triticum L., Aegilops L., Hordeum -  
L. y Secale L.; reconoció los especímenes de herbarios para -  
interpretar el tratamiento taxonómico de cada autor; estudió  
cuidadosamente las monografías publicadas sobre cada género y  
tuvo en cuenta los trabajos genéticos, citológicos y los estu-  
dios ecológicos y sobre la diversificación de géneros y espe-  
cies. Por último determinó el número cromosómico de todo el -  
material recogido y sembrado en campo e invernadero y creó una  
colección de especímenes que quedó depositada permanentemente  
en el Herbarium del Departamento de Agricultura de Ottawa y en  
el del Royal Botanic Garden de Kew (Inglaterra).

Después de la clasificación de BOWDEN , MAC KEY hizo una nueva revisión en 1966, que aunque simplificaba más el sistema taxonómico del género Triticum L. tenía más interés por lo práctico que por su base científica. En síntesis la clasificación de MAC KEY se caracteriza por lo siguiente, conserva la división en las secciones MONOCOCCA, DICOCCOIDEA y SPELTOIDEA de FLAKSBERGER. En la sección MONOCOCCA ( $2n = 14$ ) incluye una sola especie: T. monococcum L. compuesta por las subespecies boeoticum (Boiss.) MK. y monococcum L.; en DICOCCOIDEA ( $2n = 28$ ) separa dos especies, T. turgidum (L.) Thell. con las subespecies dicoccoides (Körn.) Thell., dicoccum (Schrank) Thell., paleocolchicum (Men.) MK., turgidum: conv. turgidum, durum - (Desf.) MK., turanicum (Jakubz.) MK. y polonicum (L.) MK., y la subespecie carthlicum (Nevski) MK.; y la especie T. Timopheevi Zhuk. compuesta por las subespecies araraticum (Jakubz.) MK. y Timopheevi Zhuk.; en la sección SPELTOIDEA incluyó dos especies: T. zhukovskyi Men. et Er. y T. aestivum (L.) Thell., subdividida además en las subespecies spelta (L.) Thell., vavilovi (Tum.) Sears, macha (Dek. et Men.) MK., vulgare (Vill.) MK., compactum (Host.) MK. y sphaerococcum (Perc.) MK.

MAC KEY sostuvo que la inclusión del género Aegilops L. en el Triticum L. era inadecuada por no haber suficiente información para llevar a cabo esta fusión y por no ser una medida práctica desde el punto de vista de la extensa bibliografía ya existente en la que se les trataba como géneros distintos. - Por otra parte MAC KEY consideró que T. Timopheevi Zhuk. tenía categoría de especie y no de variedad como propuso BOWDEN, basándose en la evidencia del aislamiento genético y ecológico de esta especie con respecto a T. turgidum L. demostrada por WAGENAAR en 1961.

Otras innovaciones a la clasificación de BOWDEN que hoy - se han propuesto son las siguientes:

BOWDEN consideró como variedad el trigo tumanianii aparte de la variedad Timopheevi, y ambas incluidas en la especie T. turgidum L. Tras los trabajos de JAKUBZINER (1959) y WAGENAAR (1966), esta entidad, conocida por T. araraticum Jakubz. se - considera hoy en día como una forma silvestre de T. Timopheevi Zhuk. y con tratamiento taxonómico de subespecie.

KUCKUCK (1964) consideró inadecuada la separación de las formas spelta y macha dentro de T. aestivum L.

Por último MORRIS y SEARS (1966) recomendaron la inclusión de Aegilops L. en Triticum L., con lo que la clasificación de BOWDEN se puede decir que queda prácticamente intacta.

## 2.- SOBRE EL ORIGEN DE LOS TRIGOS

Tras el establecimiento de los números cromosómicos de - las especies de trigo como 14, 28 y 42 en 1918 por SAKAMURA, quedaba patente el papel que la poliploidía había desempeñado en la evolución de este género. El segundo paso consistió en estudiar el comportamiento de los híbridos interespecíficos e intergenéricos a nivel de su fertilidad y apareamiento meiótico. KIHARA en 1919 y 1924 y SAX en 1922 fueron los primeros en evidenciar el papel que había jugado la alopoliploidía en la evolución de los trigos. De acuerdo con ésto KIHARA propuso las fórmulas genómicas AA, AABB y AABBDD para los trigos - diploides, tetraploides y hexaploides, respectivamente.

La fuente del genomio A fue reconocida por LILIENFELD y KIHARA (1934) como T. monococcum L. ( $2n = 14$ ).

En 1926 GAINES y AASE y en 1939 SEARS determinaron que el genomio D se encontraba presente en T. cylindricum Ces., ya que los hexaploides cruzados por esta especie mostraban sólo siete bivalentes en la meiosis del híbrido, mientras que en el híbridos entre la misma y las formas tetraploides no había apareamiento. Como T. cylindricum Ces. es un tetraploide compuesto por el genomio D y otro, no se pudo considerar sino el resultado de la hibridación de otras dos especies diploides, una de las cuales aportaría el genomio D. En 1944 Mc. FADDEN y SEARS por un lado y KIHARA por otro determinaron independientemente que el origen del genomio D estaba en el diploide T. aegilops (P.) Beauv.

En 1956 SARKAR y STEBBINS, como habían sugerido previamente WAKAR (1935), PETO (1936) y MATSUMURA (1951), sugirieron que la fuente del genomio B era T. speltoides (Tausch.) Gren., al conseguir el híbrido entre T. monococcum L. y T. speltoides (Tausch.) Gren. y el correspondiente anfidiplóide y observar las características morfológicas que le aproximaban notablemente a los trigos de la sección **DICOCCOIDEA**. Sin embargo, ni el híbrido, con genomios hipotéticos AB, mostró una ~~as~~sinapsis total, ni el producto de la duplicación cromosómica del mismo, de genomios hipotéticos AABB, dio células con 14 bivalentes, sino que presentó muchos multivalentes. En 1957 OKAMOTO y en 1958 RILEY y CHAPMAN Y SEARS y OKAMOTO demostraron que en el cromosoma 5B existía un sistema genético que inhibía el apareamiento entre cromosomas homeólogos (cromosomas genéticamente equivalentes y con origen an-

cestral común). Entonces propusieron que la irregularidad en el híbrido de T. monococcum L. x T. speltoides (Tausch.) Gren., hipotéticamente AB, que sólo poseía un cromosoma 5B se debería a la condición monosómica de dicho cromosoma, permitiendo el apareamiento entre cromosomas de los genomios A y B. Queda sin embargo por explicar el por qué de la existencia de multivalentes en la forma producto de la duplicación cromosómica - de dicho híbrido. Por otra parte RILEY, UNRAU y CHAPMAN en 1958 y CHENNAVEERAI AH en 1960 en estudios cariomorfológicos - determinaron que de todos los posibles donantes del genomio B sólo T. speltoides (Tausch.) Gren. y T. tripsacoides (Jaub. & Spach.) Bowden tenían dos cromosomas satelizados que se correspondían a los del genomio B de las especies tetraploides.

En el momento presente se piensa que el genomio B de los trigos tetraploides y hexaploides actuales proviene no de T. speltoides (Tausch.) Gren., sino de una forma ancestral extinguida de la que derivarían esta especie y los trigos que hoy tienen el genomio B. T. speltoides (Tausch.) Gren. sería como un escalón evolutivo más o menos cercano al ancestral - extinguido, pero el genomio B actual diferiría del de T. speltoides (Tausch.) Gren. por un proceso evolutivo conducente a establecer barreras entre ambos, principalmente cambios estructurales cromosómicos y mutaciones. Dicho de otra manera de entre todos los diploides actuales el más próximo a la forma originaria del genomio B es T. speltoides (Tausch.) Gren. que representa por tanto una forma intermedia en la evolución del - genomio B.

Además de la poliploidía, cuyo papel en la evolución de los trigos queda claro en los párrafos anteriores relativos a

los genomios de las formas cultivadas, la especialización ecológica y la distribución geográfica han tenido un papel muy importante y cuyo resultado es el complejo sistema de grupos y formas del género Triticum L. Los procesos de aislamiento geográfico y de adaptación a nuevos hábitats producirían un efecto adicional de cambios estructurales y mutaciones que derivarían en nuevas barreras de especiación. Las especies silvestres tienen una gran importancia por constituir un rico almacén de variación genética, y su utilización hoy en día es relativamente sencilla.

Las cuatro fuentes silvestres según ZOHARY (1970) son:

(a) para los trigos con genomio A el T. monococcum L. que se encuentra extendido desde el Oeste de Asia hasta el Sureste de los Balkanes, teniendo su máxima diversidad de formas en el Sur de Turquía, Norte de Irak, Irán y Siria, esta forma espontánea también es cultivada en menor extensión; (b) para los trigos con genomio B el T. speltoides (Tausch.) Gren., cuya distribución geográfica se solapa en parte a la de los portadores silvestres del genomio A, estando restringido al rincón Sureste del Mediterráneo, por el Sur de Turquía, Norte de Siria, Norte de Irak e Israel. Muy a menudo se dan juntos ambos genitores diploides silvestres, lo que, y suponiendo que también sus centros de origen fuesen más o menos los mismos, explicaría la forma de origen de los tetraploides por hibridación y duplicación cromosómica del híbrido; (c) para los trigos con genomios D, T. aegilops (P.) Beauv., con un centro de distribución más oriental que los anteriores extendiéndose por el Asia Soviética Central, Oeste de Turquía, Irak y Pakistán, la mayor diversidad de formas se encuentra al Sur del Caspio; (d) para los trigos tetraploides con geno

mios AB, existen dos tipos de trigos silvestres: ( $d_1$ ) el T. turgidum L. var. dicoccoides (Körn.) Bowden, que tiene su - centro de distribución restringido a Palestina y Siria, y - que posee una gran afinidad citogenética con los trigos tetraploides cultivados siendo los híbridos completamente inter fértiles; y ( $d_2$ ) el T. Timopheevi Zhuk. subsp. araraticum - (Jakubz.) MK., extendido por Armenia y Georgia, en Rusia, y zonas adyacentes de Turquía, Irán e Irak. Las dos formas son morfológicamente muy similares pero citogenéticamente diferentes como lo demuestra el hecho de que el araraticum tiene fuertes barreras de esterilidad cuando se le cruza con otros tetraploides sean cultivados o espontáneos, a excepción de - cuando se le cruza con T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi de constitución genómica AB', con el que el híbrido es parcialmente estéril aunque su estabilidad meiótica es alta y - del que se piensa que es una forma cultivada del araraticum.

En cuanto a los trigos hexaploides predominan las formas cultivadas.

Según ZOHARY (1970) para la mejora de los trigos cultivados se pueden buscar genes silvestres en los cuatro tipos de trigos antes mencionados, con los que existen muchas veces - una homología cromosómica muy elevada. Para mejora de los trigos tetraploides se puede echar mano de tres fuentes (a, b y d) y para mejora de los hexaploides éstas están suplementadas por una cuarta (c).

De las formas cultivadas a nivel diploide sólo se ha encontrado T. monococcum L., y esporádicamente. BOROJEVIC en - 1956 dio como dato el cultivo de esta especie en cuatro mil -

Has. en Yugoslavia, en regiones frías y de suelos pobres. En España se conoce con los nombres de "escaña", "escaña menor", "espelta petita", "esprilla" y "carraón".

En cuanto a los trigos tetraploides muestran una extensa gama de formas cultivadas. Esta diversidad se debe en gran parte a que las formas primitivamente domesticadas y con el uso de prácticas agrícolas rudimentarias permitió cruzamientos ocasionales entre las formas semi-silvestres y auténticamente silvestres, produciéndose introgresiones génicas que afectaron tanto a las formas cultivadas como a las espontáneas (ZOHARY y FELDMAN, 1962).

Se pueden considerar dos grupos de trigos tetraploides cultivados, los de constitución genómica AABB, es decir todos los cultivares y variedades de T. turgidum L. (a excepción de las formas Timopheevi), y los de constitución genómica AAB'B; es decir la especie T. Timopheevi Zhuk. En el primer grupo el trigo tetraploide cultivado más antiguo que se conoce es el cultivar dicoccum. En España se conoce con los nombres de "escaña", "escaña doble", "escandia", "ezcandia" y "povia". Fue encontrado en Jarmo (Irak) en unas excavaciones arqueológicas que databan de 7.000 años antes de Cristo. Esta forma representaría el primer paso en la domesticación de T. turgidum L. var. dicoccoides (Körn.) Bowden, que es la forma silvestre correspondiente a los trigos cultivados de constitución genómica AABB, y a partir de él se iría extendiendo su cultivo y a la par diversificando en un sin fin de cultivares por mutación génica, principalmente, a través del Cercano Oriente, Norte de Africa y Europa. Los híbridos de diferentes cultivares de este grupo dan normalmente 14 bivalentes en la meiosis,



lo que justifica el tratamiento taxonómico de BOWDEN, quien rechazó el taxón de especie para un gran número de trigos tetraploides.

Entre los cultivares tetraploides de T. turgidum L. se encuentra el durum, con una amplia gama de genotipos cultivados estando muy extendido por toda la cuenca Mediterránea y particularmente en España, en donde exhibe una gran riqueza de formas. Su existencia se conoce desde los tiempos grecorromanos estando presentes según SCHIEMANN (1948) por entonces en Egipto. Los durum se extienden por zonas de climas templados y periodo vegetativo largo. Hoy en día su mayor diversidad de formas se encuentra en Etiopía, mientras que el genocentro parece ser el Sur Asiático (Turquía e Irán), del que poco a poco fue siendo sustituido por formas hexaploides.

En cuanto al segundo grupo de trigos tetraploides cultivados está representado por la especie T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi, cuyo cultivo se practica en el Sureste de Rusia en unas pocas granjas de las montañas de Georgia. Los híbridos entre T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi y la subsp. araraticum dan un apareamiento cromosómico normal en meiosis, por lo que la primera se considera como la forma domesticada de la araraticum.

Por último y en cuanto al origen de los trigos hexaploides de constitución genómica AABBDD, que casi sólo se encuentran como formas cultivadas, está en la incorporación del genomio D a formas tetraploides. Las diferencias encontradas entre los grupos de variedades cultivadas de trigos hexaploides se deben a simples genes, a excepción del cultivar Triticum x

Aestivum L. emend. vavilovii, que posiblemente difiera del resto en más genes recesivos (SINGH, ANDERSON y PAL, 1957).

Las formas hexaploides más primitivas encontradas son las espeltoides, de grano vestido y raquis frágil. Su cultivo se da principalmente en zonas de clima extremado y montañas que quedan cubiertas de nieve durante una gran época anual. En España hay formas de esta especie en Asturias donde se la conoce con el nombre de "escanda". Su centro de origen según DEKA PRELEVICH y MENABDE (1932) sería el Oeste de Georgia, por haberse encontrado allí una gran cantidad de formas espeltoides espontáneas.

Aparte del grupo spelta se consideran los grupos aestivum, de raquis fuerte y con tendencia a espiga más compacta; compactum, de espigas muy compactas, y sphaerococcum, de espigas compactas y grano esférico.

Se han determinado las diferencias genéticas entre los grupos de cultivares de los trigos hexaploides, quedando establecidos los siguientes genotipos:

<u>spelta</u> y <u>macha</u>	= qqccSS
<u>aestivum</u>	= QQccSS
<u>compactum</u>	= QQCCSS
<u>sphaerococcum</u>	= QQccss

Estando Q en el genomio A, y C y S en el genomio D (Q = raquis elongado, q = raquis espeltoide; C = espiga compacta, c = espiga larga; S = grano alargado, s = grano esférico). - El paso de unas formas cultivadas a otras se ha explicado -

en todos los casos por mutación. Así, el grupo aestivum procede del spelta por mutación de q a Q, el compactum procede del aestivum por mutación de c a C y el sphaerococcum de aestivum por mutación de S a s.

Resumiendo, se puede decir que la extensa diversidad de formas de trigos existentes en la actualidad, tanto cultivadas como silvestres, deben su origen en primer lugar a la poliploidía, en segundo lugar a factores geográficos y de aislamiento ecológico y en tercer lugar y como consecuencia de su adaptación a nuevos hábitats, a la introgresión génica, mutación y cambios estructurales cromosómicos.

### 3.- CONSTITUCION GENOMICA DE LOS TRIGOS TETRAPLOIDES

Todos los trigos tetraploides se pueden agrupar en dos grupos por su constitución genómica. Los de genomios AABB y los de genomios AAB'B'. Al primer grupo pertenecen todos los tetraploides a excepción del T. Timopheevi Zhuk.; al segundo las dos subsp. de esta especie.

La forma Timopheevi fue descubierta en 1923 en las zonas montañosas de Georgia por ZHUKOVSKY, quien la elevó al rango de especie en 1928 con la denominación de Triticum Timopheevi Zhuk.

LILIENFELD y KIHARA (1934) estudiaron las afinidades genómicas de la especie recién descubierta con el resto de las formas tetraploides. Sobre la base del apareamiento meiótico determinaron que el primer genomio era común al de los trigos del grupo EMMER, es decir era A, pero el segundo genomio dife

ría sustancialmente del B. El híbrido entre T. turgidum L. - cultivar carthlicum y T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi estudiado por estos autores, mostró una meiosis muy irregular y un grado bastante elevado de esterilidad, por lo que propusieron la fórmula G para designar al segundo genomio de las formas Timopheevi.

Sin embargo en 1936 KOSTOFF y en 1941 LOVE demostraron que la separación entre los dos genomios no era tan drástica y propusieron el símbolo  $\beta$  en lugar de G para el segundo genomio de Timopheevi.

SVETOZAROVA en 1939 señaló la clara afinidad genómica entre T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi y la subsp. araratium, ya que los híbridos entre ambas mostraban buen apareamiento meiótico aunque fuesen parcialmente estériles.

SEARS en 1948 apuntó que así como el origen de los genomios A de ambos grupos tetraploides era el mismo, los genomios B y G derivarían probablemente de especies diferentes, proponiendo de nuevo la fórmula G para el segundo genomio de T. Timopheevi Zhuk., basándose al igual que LILIENFELD y KIHARA en la inestabilidad meiótica de los híbridos tetraploides en los que una de las formas era Timopheevi.

SACHS en 1953 supuso en contraposición de SEARS que todos los trigos tetraploides, incluido T. Timopheevi Zhuk., tenían un progenitor común de 28 cromosomas que sería la forma dicoccoides. SACHS afirmó que el apareamiento metafásico en híbridos no podía considerarse como observación suficiente para asignar genomios a las formas implicadas. Se basó además

en el hecho de que los idiogramas de Timopheevi y araraticum y del resto de los tetraploides eran prácticamente iguales - y concluyó que la inestabilidad meiótica en los híbridos entre ambos grupos tetraploides era debida a cambios estructurales crípticos en los cromosomas.

En 1956 SEARS y en 1958 RILEY y col. confirmaron la idea de SACHS conviniendo en el origen común de ambos grupos tetraploides.

WAGENAAR en 1961 cruzó una línea de T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi por 79 cultivares de trigos tetraploides y observó que salvo dos de estos híbridos el resto mostraba meiosis irregular, variando el número medio de univalentes - por célula madre del polen en metafase primera, de híbrido a híbrido. Cruzó entonces híbridos que mostraron muchos univalentes por los que mostraban pocos y la  $F_1$  de estos cruza- mientos resultó con gran estabilidad meiótica y fertilidad. Basándose en estos hechos y en la observación del apareamiento secundario regular de univalentes en los híbridos T. turgidum L. cultivar durum x T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi, llegó a la conclusión de que T. Timopheevi Zhuk. posee de hecho la constitución genómica AABB, y que las irregularidades meióticas observadas están inducidas por un juego de genes - asinápticos o desinápticos específicos de T. Timopheevi Zhuk. Sugirió por tanto, que la especiación de T. Timopheevi Zhuk. habría tenido su base en un proceso de diferenciación génica y no por cambios estructurales.

FELDMAN en 1966 estudió el apareamiento meiótico entre - el híbrido T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi x T. aegilops

(P.) Beauv. y 19 líneas monotelocéntricas de los genomios A y B de T. aestivum L. cultivar Chinesse Spring. En un híbrido - así, y si el cromosoma telocéntrico relativo tuviese un brazo homólogo en cada cromosoma de Timopheevi, se deberían formar - bivalentes heteromorfos. Si se formasen multivalentes, ésto in dicaría la existencia de cambios estructurales en los cromosomas; pues bien, en 10 de las 19 líneas híbridas (4 del genomio A y 6 del B) se daban asociaciones multivalentes, por lo que FELDMAN dedujo que los cromosomas de los genomios de T. Timopheevi Zhuk. diferían de los A y B de Chinesse Spring en por lo menos cinco translocaciones. Además cada telocéntrico mostró apareamiento, posiblemente con un cromosoma de T. Timopheevi Zhuk., pero 6 de los 8 telocéntricos del genomio A aparearon con una frecuencia superior al 70% y sólo uno de los 11 - del genolmio B con una frecuencia de más del 70%. FELDMAN supuso que el fallo en el apareamiento en los híbridos estudiados implicaba a los cromosomas del genomio B y su correspondiente de T. Timopheevi Zhuk. Por tanto demostró que el pobre apareamiento meiótico en los híbridos tetraploides que tenían a Timopheevi como uno de los parentales se debería a diferencias estructurales y no génicas como supuso WAGENAAR en 1961.

En 1967 JOHNSON hizo un estudio comparativo de patrones electroforéticos de proteínas procedentes de grano, entre siete formas de trigos tetraploides de constitución genómica - AABB y cuatro de genomios AAB'B'. Los patrones obtenidos mostraron dos series de bandas, una rápida y otra lenta. En la - serie rápida las siete formas del grupo AABB mostraron un patrón idéntico, y las cuatro formas de Timopheevi un patrón - con seis o siete bandas idénticas. Los dos grupos diferían en

tre sí en cuatro bandas, dos de las cuales se atribuyeron al genomio A.

En 1968 LACADENA y RAMOS en un estudio comparativo del apareamiento meiótico de una planta haploide espontánea de T. turgidum L. cultivar durum con el de haploides de T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi, observados por SIMONET y CHESNEAUX (1954) y RILEY y CHAPMAN (1957), dedujeron una mayor afinidad u homeología entre los genomios A y B de T. turgidum L. que entre A y B' de T. Timopheevi Zhuk.

En 1969 BOZZINI y GIORGI, basándose en los estudios de FELDMAN y JOHNSON, hicieron un estudio cariotípico comparativo entre T. turgidum L., T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi y T. Timopheevi Zhuk. subsp. araraticum. Vieron que entre los dos últimos existía una similitud cariotípica muy grande y que las diferencias cariotípicas de ambos con respecto a los demás tetraploides eran significativas. Comprobaron la existencia de algunos cromosomas muy similares en turgidum y araraticum, pero no especificaron si se trataba de cromosomas del genomio común A. Concluyeron que los dos grupos de trigos tetraploides con sus correspondientes formas cultivadas y espontáneas están separados por barreras de esterilidad, en primer lugar por diferenciación estructural y en segundo lugar por factores citoplásmicos que controlan la androesterilidad (WILSON y ROSS, 1962).

WAGENAAR de nuevo en 1970 hizo el análisis citogenético de tres generaciones de retrocruzamiento del híbrido T. turgidum L. x T. Timopheevi Zhuk. y observó segregación respecto al comportamiento meiótico, suponiéndolo regulado por poligenes;

criticó los trabajos de FELDMAN (1966) y BOZZINI y GIORGI - (1969) sobre la base de que la diferenciación estructural no implica el que no la haya genética. No obstante, dió validez a los trabajos de BOZZINI y GIORGI (1969) y JOHNSON (1967) pero interpretando las respectivas observaciones desde el punto de vista de la diferenciación genética. Así, referente a los - patrones electroforéticos observados por JOHNSON (1967) supu- so que los cambios en bandas se deben a mutaciones que altera- rían la composición proteínica de los materiales comparados, sin dejar de aceptar que los cambios estructurales indujesen el mismo efecto.

El problema de la relación y origen de los genomios si- gue en pie; hoy se acepta el origen común de los genomios B y B'; pero el hecho del desconocimiento de las causas de la - inestabilidad meiótica en los híbridos que los reúnen, justi- fica cualquier estudio que se realice para dilucidar el pro- blema.

#### 4.- SOBRE LAS CARACTERISTICAS DE LOS TRIGOS DUROS ESPAÑOLES

Los trigos duros, Triticum durum L. según la considera- ción taxonómica anterior a la revisión de BOWDEN (1959), tu- vieron por centro de origen y de diversidad el descrito por VAVILOV (1926) como Cercano Oriente.

Al contrario que T. Timopheevi Zhuk., los trigos duros - se extendieron geográficamente mucho más por el Este hacia - el Centro de Asia, por el Sur hacia Egipto y Etiopía y por - el Oeste hacia Europa. Es de suponer que en España entraron a través de Africa en donde ya estaban presentes durante los



tiempos grecorromanos.

La mayor diversidad de formas de trigos duros se encuentra hoy en Etiopía, mientras que la diversidad genética que se concentraba en el Sureste de Asia (Turquía e Irán), ha decrecido considerablemente, posiblemente desplazada por la creciente extensión de los cultivares hexaploides que muestran una cantidad mayor de genotipos y por tanto mejor adaptación a todos los ambientes (ZOHARY, 1970).

La posición sistemática más acertada es como grupo de cultivares dentro de la especie T. turgidum L. (BOWDEN, 1959).

Los trigos duros son trigos adaptados a climas templados y debido a la enorme lista de variedades genéticas que componen este cultivar las características agronómicas varían mucho de unas formas a otras. Las características comunes a todas las formas tetraploides y a algunas hexaploides y por tanto superespecíficas, son las siguientes: las espigas no se desarticulan en la madurez; el grano se separa con facilidad de las glumas en el trillado; las glumas son coriáceas; la flor superior de la espiguilla sobresale por encima de las glumas (SANCHEZ-MONGE, 1957). Las características de la especie T. turgidum L. son las siguientes: espigas normalmente aristadas y comprimidas; estrechas de cara y anchas de perfil; espiguillas normalmente comprimidas, apretadas, imbricadas en filas laterales; glumas unicarenadas, estando marcadas fuertemente por una vena adaxial y más conspicuamente por una abaxial; glumas lisas; lemma normalmente terminada en aristas largas (BOWDEN, 1959).

Los trigos duros están muy diversificados en España donde existen varios cientos de genotipos diferentes. Los trigos duros españoles han gozado siempre de una merecida fama internacional por su calidad semolera, pero están siendo objeto en los últimos años de una alarmante pérdida de área de cultivo, existiendo el riesgo de que se llegue a abandonar su cultivo a favor de los trigos blandos cuya mayor productividad compensa la pequeña diferencia de precio a favor de los trigos duros.

#### 5.- SOBRE LAS CARACTERISTICAS DE TRITICUM TIMOPHEEVI ZHUK.

T. Timopheevi Zhuk. es una especie endémica de las zonas montañosas del Cáucaso, más concretamente Georgia y Armenia. Como ya se ha mencionado, su descripción fue hecha por primera vez por ZHUKOVSKY en 1923, quien la trató como una variedad de la por entonces tenida por especie T. dicoccum Schrank. - var. dicoccoides Körn. En 1928 el mismo ZHUKOVSKY la elevó al rango de especie y la describió como "especie herbácea, rara en estado silvestre y peculiar sólo de Georgia". En 1944 ZHUKOVSKY la describió como "endémica del Oeste de Georgia, de desgranado difícil y con espigas aristadas". NEVSKI en 1934 - consideró que T. Timopheevi Zhuk. era endémica del Este de Transcaucasia.

Una forma silvestre de este trigo se describió por JAKUB ZINER en 1932, quien en un principio la clasificó como subespecie dentro de T. dicoccoides Körn. con el nombre de subsp. armeniacum Jakubz., y en 1938 MAKUSHINA la elevó al rango de especie con la denominación T. armeniacum (Jakubz.) Makushina.

En 1947 JAKUBZINER la denominó T. araraticum Jakubz.

En 1959 BOWDEN consideró que no se les debía dar categoría de especies a ninguna de las dos formas encontradas, Timopheevi y armeniicum, rebajándolas a la categoría de variedad botánica dentro de la especie T. turgidum L.

Por último MAC KEY (1966) basándose en el tratamiento anticipado de FORLANI (1952) repuso para T. Timopheevi Zhuk. el nivel de especie, considerándola del siguiente modo: T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi y T. Timopheevi Zhuk. subsp. - araraticum (Jakubz.) MK.

Esta última posición es la que parece debe sostenerse hoy dada la afinidad genómica entre ambas subespecies demostrada por SVETOZAROVA en 1939, y el aislamiento genómico, bien por diferenciación cromosómica estructural críptica (FELDMAN, 1966 y BOZZINI y GIORGI, 1969) o por diferenciación génica (WAGENAAR, 1961, 1966, 1970), de ambas formas con relación al resto de los trigos tetraploides.

En cuanto a las características agronómicas de la especie T. Timopheevi Zhuk. baste decir que se trata de un trigo de espigas densas y aristadas, de desgrane difícil y con resistencia a condiciones de temperatura bajas y a la sequía. Pero por lo que llamó más la atención, esta especie fue por su condición de resistente a micosis foliares (Puccinia sp., Erysiphe graminis, Septoria graminis, etc.).

Esta especie se ha utilizado mucho en mejora de trigos especialmente para dos tipos de fines distintos: (a) Para -

conseguir la introgresión de genes de resistencia a las formas cultivadas principalmente mediante el uso de retrocruzamientos (MAINS, 1933; KOSTOFF, 1937; PRIDHAM, 1939; SHANDS, 1941; ALLARD 1949; KISS, 1956; PATIL y DEODIKAR, 1963; etc.). (b) Para producir formas androestériles sobre citoplasma Timopheevi mediante la introducción en él del núcleo de otras especies de trigo, para la explotación de la heterosis. Las formas obtenidas sobre citoplasma Timopheevi se indican en el apartado siguiente.

#### 6.- SOBRE LA OBTENCION DE FORMAS ALOPLASMICAS Y SUS EFECTOS

Los estudios realizados en cruzamientos entre especies vegetales afines para diversos fines, generalmente con objeto de adivinar la proximidad sistemática, condujeron a que tras reiteración de retrocruzamientos utilizando siempre el mismo polinizador se obtuvieran nuevas formas que reuniesen el citoplasma de una variedad, especie o género y el núcleo de otra. Así MICHAELIS en 1933 obtuvo formas híbridas de Epilobium hirsutum(♀) x E. luteum y de E. luteum (♀) x E. hirsutum, a partir de las cuales y retrocruzando reiteradas veces por el mismo polinizador llegó a obtener las formas de citoplasma hirsutum y núcleo sustituido de luteum y de citoplasma luteum con núcleo hirsutum. Los estudios de MICHAELIS (1954) sirvieron para observar los efectos fisiológicos y sobre la fertilidad en las formas híbridas y con núcleo sustituido, y el efecto del citoplasma en las formas recíprocas. En trabajos posteriores sentó las bases para la comprensión de la herencia citoplásmica, en especial por segregación intraindividual o intracelular de plasmagenes y plastidios (MICHAELIS, 1966, 1967 y 1968).

CASPARI en 1948 interpretó los primeros trabajos de MICHAELIS bajo el criterio de la interacción entre citoplasma, factores citoplásmicos o plasmones como él los llamaba, y genes nucleares y expuso la eficacia del método de retrocruzar reiteradas veces para obtener en un corto plazo una forma con núcleo de otra.

KIHARA en 1951 y basándose en los trabajos de MICHAELIS, fue el primero en utilizar el método de retrocruzar sucesivamente para obtener formas con citoplasma y núcleo de distinta procedencia. KIHARA lo aplicó para dilucidar sobre la afinidad genómica dentro de los supuestos géneros Triticum L. y Aegilops L., y para transferir genomios completos de unas formas a otras. Se considera a KIHARA como el primero que usó el método con el fin de sustituir un núcleo por otro y él fue también quien bautizó esta técnica con el nombre de "retrocruzamientos de sustitución", distinguiéndolo de los "retrocruzamientos de restauración" que consistían en devolver a una forma con núcleo sustituido un núcleo igual al que poseía originalmente.

La forma de núcleos sustituidos se obtendrá de la siguiente manera: suponiendo dos especies diploides, AA y BB en las que se desea transferir el núcleo de la segunda al citoplasma de la primera, el primer paso será obtener el híbrido, AB, - utilizando como parental femenino la especie AA. A continuación la  $F_1$ , AB, se cruzará reiteradamente por la especie BB, lo - cual será posible cuando el híbrido AB sea capaz de producir algún gameto femenino funcional, hasta conseguir la forma de citoplasma AA y núcleo BB.

Se comprende fácilmente que la sustitución nuclear total depende sobre todo de la afinidad genómica entre las dos formas que se utilizan, de los números cromosómicos de las mismas, de la fertilidad del híbrido obtenido, de la selección realizada por el mejorador para caracteres paternos y de la selección gamética natural por inviabilidad de los gametos -desequilibrados.

KIHARA (1963) en formas con citoplasma de A. caudata - L. y núcleo sustituido de T. aestivum L. utilizado como polinizador recurrente, observó cómo la estabilidad meiótica aumentaba de una generación de retrocruzamiento a la siguiente y el número de bivalentes llegaba pronto a ser de 21 en todas las metafases primeras de las células madres del polen.

EDWARSON en 1956 hizo una revisión sobre la androesterilidad citoplásmica distinguiendo la que procedía de cruzamientos intraespecíficos, interespecíficos o intergenéricos, de la producida espontáneamente. LACADENA en 1968 basándose en el tratamiento dado por EDWARSON a la androesterilidad citoplásmica, propuso una terminología especial para la génico-citoplásmica (androesterilidad causada por interacción entre genes nucleares y factores citoplásmicos). Denominó "autoplásmica" a la resultante de reunir núcleo y citoplasma en un mismo individuo, procedentes de una misma población; "homoplásmica" cuando el citoplasma y el núcleo que se reúnen en la misma - forma proceden de poblaciones diferentes de la misma especie, y "aloplásmica", reunión de núcleo y citoplasma de especies - diferentes, pudiendo a su vez considerarse una aloplasmia intergenérica y una interespecífica.

La obtención de formas aloplásmicas androestériles ha sido un paso importante dado durante las últimas décadas. - Las primeras formas obtenidas en trigos fueron las de KIHARA (1951) y FUKASAWA (1953) y desde entonces son muchas las formas conseguidas. SANCHEZ-MONGE (1971) hizo la revisión más actualizada de las formas aloplásmicas obtenidas en plantas cultivadas en general. Para no hacer una lista interminable se citan a continuación sólo las formas aloplásmicas cuyo donante citoplásmico fue T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi, indicando únicamente la especie que aportó el núcleo:

- T. turgidum L. cultivar durum, (KIHARA, 1959; - KIHARA y TSUNEWAKI, 1961).
- T. turgidum L. varios cultivares (SANCHEZ-MONGE, 1973).
- T. aestivum L. varios cultivares (WILSON y ROSS, 1962).

El efecto aloplásmico más interesante desde el punto de vista práctico de la mejora es la androesterilidad. La utilización de la heterosis o vigor híbrido tras autofecundación y cruzamiento de líneas consanguíneas seleccionadas para la obtención de semilla híbrida es conocida desde principios de siglo, en que EAST, SHULL y JONES (1908 a 1918) obtuvieron los primeros híbridos de maíz por explotación de la heterosis.

La heterosis es difícil de aplicar en la práctica en plantas que por su morfología floral hacen difícil la castración manual. La utilización de la androesterilidad para la obtención de semilla híbrida en cebolla por JONES y ENSWELLER (1937) y

más tarde por JONES y CLARKE (1943), y en sorgo por STEPHENS y HOLLAND (1954) abrieron el camino para la consecución de - la heterosis en otras plantas cultivadas en las que la castra<sub>ci</sub>ón manual encarecía el precio de la semilla híbrida.

El problema más importante que había que resolver, una - vez conseguidas las formas androestériles, era el de obtener - líneas restauradoras de la fertilidad. El progreso en los estudios genéticos sobre la androesterilidad génico-citoplásmica ha dado lugar al conocimiento de un gran número de genes - restauradores de la fertilidad, así como a su análisis factorial y su localización sobre cromosomas específicos.

El primer paso fue designar con el símbolo Rf toda clase de genes de restauración de la fertilidad. Este símbolo se ha utilizado por varios autores (LIVERS, 1964; ROBERTSON y CURTIS, 1967; KIHARA, 1969; TAHIR y TSUNEWAKI, 1969; TSUNEWAKI, 1969; IZHAR y FRANKEL, 1971). Un segundo requisito fue el añadir una tercera letra a este símbolo para indicar el nombre del citoplasma en el que dicho gen produce la restauración, así se ha designado por Rfc los genes restauradores de la fertilidad sobre citoplasma de T. dichasians (Zhuk.) Bowden, más conocida - por A. caudata L. Además se suele añadir un número arábigo - que sirve para designar el orden de descubrimiento del gen restaurador dentro de cada citoplasma; así Rfc<sub>1</sub> dado por KIHARA (1951) designa el primer gen de restauración encontrado en la aloplasmia de citoplasma caudata y núcleo de T. aestivum L.

En el caso de T. Timopheevi Zhuk. no se ha añadido una - letra tras el símbolo Rf por haber sido encontrados tres genes restauradores sobre este citoplasma y haberse designado simple



mente por Rf<sub>1</sub>, Rf<sub>2</sub> y Rf<sub>3</sub>. El gen Rf<sub>1</sub> se encuentra localizado en el cromosoma 1A y fue descubierto por LIVERS (1964) y ROBERTSON y CURTIS (1967); el Rf<sub>2</sub> fue localizado sobre el cromosoma 7D por LIVERS (1964) y el gen Rf<sub>3</sub>, que procede de T. aestivum L. cultivar spelta, fue localizado en el cromosoma 1B por TAHIR y TSUNEWAKI (1969).

Por último indicaremos otros efectos producidos en la sustitución nuclear para la obtención de formas aloplásmicas. Así, se han encontrado efectos sobre la morfología general de la planta, morfología floral, fisiológicos, etc., que acompañan generalmente aunque no siempre, a la androesterilidad. Estos efectos son fáciles de encontrar en la literatura relativa a la obtención de formas aloplásmicas interespecíficas e intergenéricas y por citar algunos autores se dan los siguientes: MICHAELIS (1954 a 1967) en retrocruzamientos de sustitución de E. hirsutum x E. luteum y viceversa; FUKASAWA (1957) que observó el efecto del citoplasma de T. ovatum (L.) Raspail en trigos tetraploides; KIHARA (1951 y 1959) y KIHARA y TSUNEWAKI (1961) quienes vieron malformaciones florales, principalmente pistiloidía, en formas con citoplasma de T. dichasians (Zhuk.) Bowden y T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi con núcleo de T. turgidum L. y T. aestivum L.; MAAN y col. (1962) y AYCOCK y col. (1963) que estudiaron los efectos de la combinación núcleo de Nicotiana tabacum sobre citoplasma de otras especies de Nicotiana; SANCHEZ-MONGE (1973) que ha estudiado los efectos de los trigos comunes y duros sobre citoplasma de Timopheevi, caudata y ovata; etc.

## 7.- SOBRE LAS CAUSAS DE LA ANDROESTERILIDAD

Dada la importancia de la androesterilidad en la mejora de plantas y en vista del éxito conseguido al lograr formas androestériles en la consecución de aloplasmias por el método de retrocruzamientos de sustitución, surgieron dos razones, la primera de tipo práctico y la segunda de investigación pura, por las que tratar de dilucidar qué mecanismos da ban lugar a la inviabilidad del polen aún siendo genotípicamente equilibrado.

Los estudios realizados abarcan dos niveles de investigación: Un nivel cito-histológico (1), y un segundo bioquímico (2). Todos los trabajos realizados dan a entender una gran diversidad en cuanto a los grados de androesterilidad.

(1).- Los trabajos cito-histológicos que se han llevado a cabo tratan de dilucidar si hay mecanismos celulares anormales que expliquen la inviabilidad del polen. Estos estudios se han realizado en dos niveles: (a) estudio de la microsporogénesis de las formas androestériles y (b) estudio histológico comparativo del desarrollo de las anteras en formas androestériles y androfértiles isogénicas, y más concretamente del desarrollo del tapete. Estos estudios llevados a cabo con mi croscopio óptico han ido acompañados a veces de estudios con microscopio electrónico.

(a) En cuanto a la microsporogénesis, y más concretamente en relación con el comportamiento de las células madres del polen, son pocos los casos en que éste es anormal. DAMON (1961) y ERICHSEN y ROSS (1963) vieron fenómenos de fusión -

de células madres de polen (C.M.P.) en sorgo androestéril, y BOHN y PRINCIPE (1964) observaron orientación anormal de los husos acromáticos en la segunda división en melón androestéril. Estos fenómenos se pueden considerar los más drásticos dentro de los que pueden conducir a la androesterilidad, ya que las células microsporógenas degeneran y no se llega a formar el polen. Como dato digno de señalar se puede decir que estos hechos sólo se han observado en androesterilidad inducida con gametocidas. LOE y SARVELLA (1963) citaron un caso de androesterilidad causada por anomalías en la meiosis en algodón consanguíneo, apareciendo muchos microcitos en tetradas como consecuencia de una fuerte asinapsis. No obstante, nadie duda que la androesterilidad no tiene relación con la estabilidad meiótica al ser muchos los casos de formas androestériles con meiosis totalmente regular.

(b) En cuanto al desarrollo histológico de las anteras, se han hecho varios estudios comparativos en formas androestériles y androfértiles. Para plantas de fertilidad normal la capa del tapete, que es en la que se ha centrado la atención, se desarrolla a partir de la capa parietal primaria que envuelve a las células esporógenas en el primordio anteral; es la más interna de las cuatro paredes que desde un principio envuelven al saco polínico, habiendo además una capa media que se reabsorbe al principio de la meiosis de las células esporógenas, un endotecio y la epidermis. Las células del tapete se hacen binucleadas poco antes del comienzo de la meiosis de las C.M.P., y se desintegran paulatinamente durante la misma, habiendo desaparecido totalmente cuando el polen posee intina, exina y poro germinal.

Se han encontrado casos en que el comportamiento del ta  
pete es distinto al normal. Así CHAUHAN y SINGH (1966) en an  
teras de flores centrales de trigos hexaploides androestéri  
les observaron una degeneración precoz del tapete, antes de  
comenzar la meiosis, no pudiendo tener lugar la microsporogé  
nesis. En otros casos se formaba un periplasmodium tapetal -  
por fusión celular del tapete, que a veces invadía el saco -  
polínico e impedía el desarrollo de las células madres del -  
polen; este hecho ha sido citado por varios autores: -  
MONOSCHMIDT (1928) en cebolla; ARTSCHWAGER (1947) en remola  
cha; ZENKTELER (1962) en zanahoria; DUBEY y SINGH (1965) en  
lino; CHAUHAN y SINGH (1966) en trigo hexaploide; TOKOMASU  
(1970) en Pelargonium, etc. Un tercer tipo de anormalidad -  
en el desarrollo del tapete es el relativo a su degeneración  
retrasada, estando relacionado con la falta de nutrición de  
las microsporas que no llegan a formar polen viable; ésto ha  
sido observado por CHANG (1954) en maíz, SINGH y HADLEY -  
(1961) en sorgo y CHAUHAN y SINGH (1966) en flores laterales  
de trigo hexaploide aloplásmico androestéril.

(2).- En un segundo nivel encontramos una serie de estudios  
bioquímicos comparativos entre anteras procedentes de plantas  
androestériles y fértiles.

También aquí encontramos dos líneas de trabajo: (a) una  
encaminada a dilucidar diferencias cuantitativas y cualitati  
vas en los componentes bioquímicos, y (b) otra dirigida a ob  
servar diferencias metabólicas, principalmente en la activi  
dad proteínica y enzimática.

(a) Los estudios cuantitativos y cualitativos comparati  
vos empezaron en 1954 con FUKASAWA quien estudió los aminoá

cidos libres presentes en anteras de trigos duros aloplásmicos con citoplasma ovata y observó que en las formas androestériles había menor cantidad de prolina y mayor de asparagina que en las androfértiles. KHOO y STINSON (1957) hicieron el mismo estudio en maíz, acompañado de observaciones morfológicas y citológicas, y observaron que en las plantas androestériles había una acumulación precoz de alanina que comenzaba al llegar al estado de tetradas las células madres del polen y aumentaba en los estados posteriores. En 1962 FUKASAWA observó en trigos aloplásmicos androestériles que las anteras tenían menor contenido en nucleótidos en el estado de tetradas, observando al mismo tiempo la degeneración de las microsporas. En 1962 BROOKS estudió las cantidades de 6 aminoácidos libres en anteras, y el peso fresco y seco y longitud de las anteras de plantas isogénicas androestériles y fértiles, observando que junto a mayor longitud y peso en las líneas fértiles había en algunas líneas más concentración de glicina y alanina; al mismo tiempo observó mayor cantidad de prolina en las anteras de las líneas androestériles y no encontró diferencias cuantitativas en treonina, ac. L-aspartico, ac. L-glutámico y L-serina. En 1961 OZAKI y TAI vieron deficiencia en prolina en arroz androestéril. BRITIKOV y MUSATOVA (1964) en adormidera y lirio observaron acumulación masal de prolina libre tras la meiosis, tomando el decrecimiento de prolina en el polen estéril como un índice de la calidad del polen pero no como la causa de esta deficiencia. En el mismo sentido BRITIKOV y col. (1964) indicaron que la ausencia de prolina en las formas androestériles no se tenía que considerar como la razón fundamental de la inviabilidad del polen, pero si como una más de las razones. En 1967 SARVELLA, STOJANOVIC y GROGAN hicieron un estudio comparativo entre plantas androestériles y fértiles en 5 líneas -

de maíz para examinar el contenido en aminoácidos de las proteínas de las anteras, estudiando tres momentos del desarrollo, durante la meiosis, de 5 a 10' días después de la meiosis y durante la antesis, y observando un crecimiento en cantidad de aminoácidos mayor en las formas fértiles. Por último, ALAM y SANDAL (1969) observaron que la cantidad de componentes bioquímicos en las anteras de plantas androestériles de sorgo era menor que la cantidad de las correspondientes - fértiles.

Todos estos estudios han servido para deducir que en - las formas androestériles hay una menor cantidad de componentes bioquímicos en las anteras con respecto a las formas fértiles.

(b) La enzima que desde un principio llamó la atención por su importante misión fisiológica en el desarrollo de los tejidos vegetales fue la callasa. En 1964 ESCHRICH y HESLOP-HARRISON independientemente reconocieron que la callasa presente en las paredes de las células madres del polen durante la profase meiótica parece un pre-requisito para el comienzo y sincronización de la meiosis; así como para la transformación de los cuatro productos de la meiosis en microsporas - normales. ESCHRICH (1964) y WATERKEIN (1964) afirmaron que - los productos de degradación de la callosa (lo cual ocurre - cuando actúa la enzima callasa), como d-glucosa y polímeros de d-glucosa, sirven como material base para la formación de la exina del polen y para la nutrición polínica. FRANKEL, - IZHAR y NITSAN (1969) en un estudio comparativo de la actividad de la callasa en Petunia androestéril y su correspondiente forma fértil observaron una actividad precoz de dicha en-

zima en las formas estériles con lo que la callosa también se degradaba precozmente y no cuando es requerida para la liberación de las cuatro microsporas de las tetradas. Los datos de estos autores les sugirieron que la acción de la callosa está regulada extracromosómicamente ya que las líneas eran isogénicas.

IZHAR y FRANKEL (1971) llevaron a cabo un estudio del pH in vivo en los lóculos de las anteras de Petunia durante y al final de la meiosis, y de la actividad de la callasa en ambos momentos. Para las formas androestériles el pH era bajo y la actividad de la callasa grande durante la meiosis, sin embargo en otra forma androestéril el pH en los lóculos se mantuvo alto y no se detectó actividad de la callasa al final de la meiosis, permaneciendo intactas las paredes de callosa durante largo tiempo. Esto sugirió una interconexión entre el pH y la actividad de la callasa.

En 1972 WARMKE y OVERMAN han realizado un estudio comparativo citológico del comportamiento de las anteras en líneas isogénicas androestériles y androfértiles de sorgo. Centrarón su atención en la actividad de la callosa y observaron que en las formas androestériles la callosa, a partir de la profase temprana, parece estar separada de los microsporocitos, formando una masa amorfa en el centro del lóculo. La masa se hace fibrosa y desaparece por completo antes de finalizar la meiosis. Al no haber callosa los cuatro productos de la meiosis no se aíslan ni funcional ni físicamente, tendiendo a aglutinarse y formando microsporas poliploides o multinucleadas que naturalmente son estériles.

De todo lo dicho se deduce en primer lugar que el problema del por qué surge la androesterilidad no está ni mucho menos resuelto; se conocen muchos hechos de entre los que el denominador común parece ser el comportamiento anormal del tapete, menor cantidad de componentes bioquímicos y actividad enzimática anormal para las formas androestériles.

Para terminar señalaremos que no se ha encontrado entre la extensa bibliografía consultada ningún trabajo sobre causas de androesterilidad en aloplasmias de trigos duros sobre citoplasma Timopheevi.

#### 8.- PUNTOS A DESARROLLAR EN ESTE TRABAJO

Como conclusión de todo lo expuesto hasta aquí en los siete primeros puntos de la Introducción, se ha visto la existencia de lagunas en los aspectos evolutivos de los trigos, en especial los tetraploides desde el punto de vista de su constitución genómica y su distribución geográfica; sobre los efectos androesterilizantes de las aloplasmias y en especial en lo relativo a la histogénesis de las anteras y comportamiento bioquímico durante el desarrollo de las mismas.

En este trabajo se van a tratar de dilucidar los puntos expuestos relativos a la consecución de aloplasmias de trigos duros españoles sobre citoplasma de T. Timopheevi Zhuk. Para ello se obtienen las aloplasmias de 11 cultivares indígenas españoles sobre dos citoplasmas correspondientes a dos líneas puras diferentes de T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi.



Las 12 aloplasmias que se utilizan se consiguen mediante el método de sustitución nuclear de KIHARA (1951) de la siguiente manera:

<u>T. Timopheevi</u>	x	<u>T. turgidum</u>
<u>T. Timopheevi</u>	x	<u>T. turgidum</u> <sup>2</sup>
<u>T. Timopheevi</u>	x	<u>T. turgidum</u> <sup>3</sup>
<u>T. Timopheevi</u>	x	<u>T. turgidum</u> <sup>4</sup>
<u>T. Timopheevi</u>	x	<u>T. turgidum</u> <sup>5</sup>

Se estudiarán en cada paso del proceso de sustitución nuclear, el número cromosómico, morfología, fertilidad de polen y floral y apareamiento meiótico del número máximo de plantas posible.

Se discutirá sobre el apareamiento entre los segundos genomas de los trigos duros españoles y Timopheevi, y se han sacado consecuencias sobre su situación evolutiva.

Se estudiará el proceso de la consecución de las aloplasmias en relación al número cromosómico, apareamiento meiótico, características morfológicas y fertilidad.

Se estudiarán las causas de la androesterilidad en - una combinación núcleo-citoplásmica con inviabilidad polínica total, a nivel histológico del desarrollo de las anteras y - bioquímico, cantidad de proteínas, comparándola con lo que - ocurre en la forma fértil que aporta el núcleo, haciendo el - estudio comparativo en varios momentos del desarrollo floral desde pemeiosis de las células madres del polen hasta la an tesis.

Se sacarán consecuencias en relación al grado de androesterilidad alcanzada, y sobre su utilidad para la obtención de semilla híbrida en los trigos duros.

## II.- MATERIAL Y METODOS

---

### 1.- MATERIAL

---

Las plantas utilizadas corresponden a cruzamientos y retrocruzamientos de sustitución, usando como hembra dos líneas puras diferentes de T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi, - por un número de variedades cultivadas españolas de T. turgidum L. cultivares durum y turgidum, utilizados como polinizadores. Las fórmulas y denominación de las líneas y cultivares se registran en la Tabla 1 y su descripción morfológica se dará a continuación.

Los cruzamientos y retrocruzamientos de sustitución corresponden de una a cinco generaciones.

Mediante castración y cruzamiento artificial, cuyo método se describe más tarde, se han obtenido 12 combinaciones citoplásmico-nucleares que se registran en la Tabla 2, junto con la generación de retrocruzamiento (n =), el número de plantas utilizado en cada una de ellas y la numeración empleada para su identificación, a cuyo fin se utilizó también un segundo número. El primero (el indicado en la Tabla 2) significa la combinación citoplásmico-nuclear, y el segundo el número de registro de cada planta dentro de cada fórmula citoplásmico-nuclear.

Descripción de las líneas utilizadas:

a) Triticum Timopheevi Zhuk.- Se han empleado las dos si

♀ <u>Triticum timopheevi</u> Zhuk.	♂ <u>Triticum turgidum</u> L.
ET 1	Alonso Alonso Pérez Jurado Blanco de Corella Enano de Jaén Fartó Rubio Las Palmas 7
ET 82	Recio de Baza Rubial de Liébana Rubio de Córdoba Rubión de Higuera Solacambre

Tabla 1.- Líneas de Triticum timopheevi Zhuk. y cultivares  
españoles de Triticum turgidum L. utilizadas.

CITOPLASMICO-NUCLEAR	n=	DE PLANTAS	DE IDENTIFICAC.	CITOPLASMICO-NUCLEAR	n=	DE PLANTAS	DE IDENTIFICAC.
ET1xBlanco de Corella <sup>n</sup>	3	2	13	ET82xAlonso P. Jurado <sup>n</sup>	2	2	10
ET1xEnano de Jaén <sup>n</sup>	4	5	39		3	3	48
	3	4	9		4	1	57
	4	3	37	ET82xFartó Rubio <sup>n</sup>	1	3	11
	5	4	63		3	3	43
ET1xRubial de Liébana <sup>n</sup>	1	4	15 y 34	ET82xLas Palmas 7 <sup>n</sup>	2	8	3
	2	11	35		3	1	50
	3	1	45		4	2	53
ET1xRubio de Córdoba <sup>n</sup>	1	1	5	ET82xRecio de Baza <sup>n</sup>	2	3	14
	3	11	35 y 46		3	2	51
ET1xSolacambre <sup>n</sup>	3	18	7		4	2	53
	4	13	38 y 41	ET82xRubio de Córdoba <sup>n</sup>	2	7	6 y 44
	5	2	64		3	1	52
ET82xAlonso <sup>n</sup>	1	2	1	ET82xR. de Higuera <sup>n</sup>	1	1	31
	2	7	2		2	1	42
	3	3	47		3	2	53
	4	2	56				

Tabla 2.- Combinaciones citoplásmico-nucleares, generación de retrocruzamiento, número de plantas utilizadas y número de identificación de las mismas.

guientes:

ET.1

ET.82

ET.1.- Triticum Timopheevi Zhuk. var. cultivada "aristato blanco" recibida del Instituto de Cerealicultura de Bologna (Italia) a través de la Estación Experimental de Aula Dei (Zaragoza).

ET.82.- Triticum Timopheevi Zhuk. var. cultivada DICKSON 303, de la colección del U.S.D.A. de Beltsville (U.S.A.) en la que figura con el número C.I.11.802.

b) Triticum durum Desf. y Triticum turgidum L..- Antes de pasar a la descripción de los 12 cultivares utilizados debemos adelantar que la primera de las dos especies mencionadas y desde la revisión de BOWDEN (1959) no es considerada especie, sino un grupo de cultivares de la subdivisión infraespecífica de T. turgidum L. emend. Esta nueva posición taxonómica fue más tarde ratificada por MAC KEY (1966), y hoy en día nadie duda en considerar a T. turgidum L. emend. como la especie única de los trigos alotetraploides. No obstante y para la descripción de los 12 cultivares utilizados por nosotros seguiremos el "Catálogo Genético de Trigos Españoles" de SANCHEZ-MONGE (1957), que por ser anterior a la revisión de BOWDEN trata a T. durum Desf. como especie. Los cultivares utilizados son:

- Alonso,

- Alonso Pérez Jurado,

- Blanco de Corella,
- Enano de Jaén,
- Fartó Rubio,
- Las Palmas 7,
- Recio de Baza,
- Rubial de Liébana,
- Rubio de Córdoba,
- Rubión de Higuera, y
- Solacambre.

Alonso.- Clasificación botánica: Triticum durum Desf., var. ferreleucomelan Palm. Variedad indígena española. Se trata de un trigo de porte erecto; aurículas lampiñas y con poca antocianina; hojas lampiñas; tallo lleno, con nudo superior lampiño y cuello ondulado; espiga simple; erguida en la madurez, oblongo-fusiforme de cara y de perfil, más ancha de perfil; espiguillas simples; aristas largas, negras, casi lisas y parcialmente caducas; glumas amarillas; lampiñas; lemma más larga y de igual anchura que la gluma; grano amarillo, elíptico, blando, pardo muy pálido al fenol.

Alonso Pérez Jurado.- Clasificación botánica: Triticum durum Desf. var. melanopus Alef. Variedad indígena española. Es un trigo de porte erecto; aurículas lampiñas y con antocianina; hojas lampiñas; tallo lleno, con nudo superior lampiño y cuello ligeramente ondulado; espiga simple, erguida en la madurez, oblongo-fusiforme de cara y oblongo-piramidal de perfil, más ancha de perfil; espiguillas simples; aristas muy largas, negras, ásperas y no caducas; glumas amarillas, pubescentes; lemma muy larga y más ancha que la gluma; grano amarillo-ambarino, elíptico, corrical, sin cambio al fenol.

Blanco de Corella.- Clasificación botánica: Triticum turgidum L., var. lusitanicum Körn. Variedad indígena española. Tiene el porte intermedio; aurículas vellosas y sin antocianina; hojas lampiñas; tallo hueco, con nudo superior lampiño y -cuello ligeramente ondulado; espiga simple, inclinada en la madurez, oblonga de cara y oblongo-fusiforme de perfil, más ancha de perfil; espiguillas simples; aristas largas, amarillas, ásperas y caducas; glumas blanco-amarillentas, lampiñas; lemma mucho más larga y más ancha que la gluma; grano blanco-amarillento, elíptico-ovalado, blando, pardo al fenol.

Enano de Jaén.- Clasificación botánica: Triticum durum Desf., var. melanopus Alef. Variedad indígena española. Es de porte intermedio; aurículas lampiñas y con antocianina; hojas lampiñas; tallo lleno, con nudo superior lampiño y cuello ondulado; espiga simple, erguida en la madurez, oblongo-fusiforme de cara y oblongo-piramidal de perfil, más ancha de perfil; espiguillas simples; aristas largas, negras, ásperas y no caducas; glumas amarillo-grisáceas; vellosas; lemma más larga y más ancha que la gluma; grano ambarino, oblongo-elíptico, duro, sin cambio al fenol.

Fartó Rubio.- Clasificación botánica: Triticum turgidum L., var. feresalomonis S.M. et Ville. Selección genealógica en un trigo levantino indígena, realizada en la Estación Experimental de Aula Dei. Trigo de porte erecto; aurículas lampiñas y sin antocianina; hojas lampiñas; tallo lleno, con nudo superior ligeramente pubescente y cuello ondulado; espiga simple, erguida en la madurez, oblonga de cara y oblongo-piramidal de perfil, más ancha de perfil; espiguillas simples; -aristas largas, negras, ligeramente ásperas y no caducas; -glumas amarillas y pubescentes; lemma de igual longitud y an



chura que la gluma; grano amarillo, blando, ovalado-elíptico, pardo pálido al fenol.

Las Palmas 7.- Clasificación botánica: Triticum durum - Desf., var. affine Körn. Variedad indígena española. Son plantas de porte erecto; aurículas pubescentes y con antocianina; hojas lampiñas; tallo lleno con nudo superior lampiño y cuello ondulado, espiga simple, erguida en la madurez, fusiforme de cara y oblongo-piramidal de perfil, más ancha de perfil; - espiguillas simples; aristas largas, amarillas, ásperas y no caducas; glumas amarillas y lampiñas; lemma más larga y más ancha que la gluma; grano rojo, oblongo, duro, pardo oscuro - al fenol.

Recio de Baza.- Clasificación botánica: Triticum durum Desf., var. melanopus Alef. Variedad indígena española. Tiene el porte erecto; aurículas lampiñas y con poca antocianina; hojas lampiñas; tallo lleno, con nudo superior lampiño y cuello ondulado; espiga simple, erguida en la madurez, - oblongo fusiforme de cara y oblongo-piramidal de perfil, - más ancha de perfil; espiguillas simples; aristas largas, - negras, ásperas y no caducas; glumas amarillas y vellosas; lemma más larga y más ancha que la gluma; grano amarillo-ambarino, oblongo, corrical, sin cambio al fenol.

Rubial de Liébana.- Clasificación botánica: Triticum turgidum L., var. dinurum Alef. Variedad indígena española. Es un trigo de porte erecto; aurículas lampiñas sin antocianina; hojas lampiñas; tallo lleno, con nudo superior pubescente y cuello ligeramente ondulado; espiga simple, inclinada en la madurez, oblonga de cara, y oblongo-piramidal de perfil, más ancha de perfil; espiguillas simples; aristas -

normales, rojas, ásperas y caducas; glumas rojas y pubescentes; lemma bastante más larga y más ancha que la gluma; grano rojo, elítico, semiduro, pardo al fenol.

Rubio de Córdoba..- Clasificación botánica: Triticum durum Desf., var. erythromelan Körn. Variedad indígena española. Es un trigo de porte erecto; aurículas lampiñas y con poca antocianina; hojas lampiñas; tallo semilleno, con nudo superior - lampiño y cuello ligeramente ondulado; espiga simple, erguida en la madurez, oblonga de cara y oblongo-piramidal de perfil, más ancha de perfil; espiguillas simples; aristas largas, negras, ásperas y no caducas; glumas rojas y lampiñas; lemma más larga y más ancha que la gluma; grano ambarino, elítico, duro o semiduro, sin cambio al fenol.

Rubiñ de Higuera..- Clasificación botánica: Triticum turgidum L., var. buccale Alef. Variedad indígena española. - Tiene un porte intermedio; aurículas vellosas y sin antocianina; hojas pubescentes; tallo lleno, con nudo superior lampiño y cuello serpenteante; espiga simple, erguida en la madurez, oblonga de cara y oblongo-fusiforme de perfil, más ancha de perfil; espiguillas simples; aristas largas, amarillo-grisáceas, ásperas y caducas; glumas amarillas y vellosas; lemma más larga y más ancha que la gluma; grano rojo, oblongo, - blando, pardo oscuro al fenol.

Solacambre..- Clasificación botánica: Triticum turgidum L., var. fererubroalbum S.M. et Ville. Variedad indígena española. Posee un porte erecto; aurículas lampiñas y con antocianina; hojas lampiñas; tallo lleno, con nudo superior lampiño y cuello ondulado; espiga simple, erguida en la madurez, oblongo-fusiforme de cara y oblongo-piramidal de perfil, más

ancha de perfil; espiguillas simples; aristas largas, negras, sólo ligeramente ásperas y caducas; glumas rojas y vellosas; lemma más larga y más ancha que la gluma; grano amarillo, ovoide, blando, sin cambio al fenol.

## 2.- METODOS

### 2.1. METODOS DE CULTIVO

Las plantas que habían de servir de receptoras en los cruzamientos, y en las que se habían de hacer observaciones citológicas, histológicas y de fertilidad, se sembraron en macetas durante la segunda quincena del mes de Noviembre de cada año y se mantuvieron en invernadero hasta el comienzo de la primavera. Las plantas que se iban a utilizar como polinizadoras para los cruzamientos se sembraron en campo, en líneas, con golpes separados 30 cms., sembrándose un golpe de 4 a 6 granos cada 15 días, empezando el 20 de Septiembre. De esta manera se aseguraba la obtención de polen utilizable durante todo el periodo de receptividad de la flor de las plantas utilizadas como hembra.

### 2.2. CRUZAMIENTOS

Se hicieron a mano según el siguiente procedimiento:

1. Preparación del parental femenino.- En espigas recién salidas de las vainas, cuando las anteras estaban aún verdes:

- se cortaron con tijeras las barbas (todas las variedades utilizadas eran aristadas),

- se arrancaron con pinzas las espiguillas superiores e inferiores, que mostraban un tamaño inferior a las es piguillas centrales, dejando tan sólo 10 ó 12 espiguillas, y de cada una de estas se arrancaban las flores centrales, dejando sólo las flores laterales, en total 20 a 24 por cada espiga (ésto se hizo con objeto de conseguir una mayor probabilidad de obtención de semilla),
- se castraron una a una las flores, extrayendo las anteras con unas pinzas finas que se introducían entre lemma y palea, cuidando de no tocar el estigma y dañar lo menos posible las glumillas,
- una vez castradas, las espigas se aislaban mediante - bolsas de papel numeradas.

2. Preparación del polinizador.- Se tomaron espigas en el momento de iniciar la antesis. A continuación se procedió a - efectuar el cruzamiento, para lo cual:

- se extrajeron con pinzas finas anteras amarillas, a - punto de dehiscencia, cargadas de polen y se rompieron sobre los estigmas de las flores previamente castradas, utilizando una o dos anteras por cada flor a polinizar,
- a continuación se volvieron a embolsar las espigas.

### 2.3. METODOS DE OBSERVACION CITOLOGICA

#### 2.3.1. Recuento cromosómico

Para la observación del número cromosómico de cada plan

ta se hicieron preparaciones microscópicas de raíces, ya que los meristemas radiculares son zonas de crecimiento activo y por tanto con alta proporción de células en división mitótica. El recuento del número de cromosomas se hizo seleccionando unas 10 placas metafásicas que mostrasen buena disociación, por cada planta. A continuación se describe la técnica seguida para la obtención de las preparaciones:

1.- Pretratamiento.- Se tomaron 2 - 3 raíces de cada planta, cuando estas tenían un considerable vigor, y se pasaron a una solución acuosa saturada de  $\alpha$ -bromonaftaleno donde se mantuvieron entre 4 y 5 horas. El  $\alpha$ -bromonaftaleno inhibe la acción del huso con la consiguiente acumulación de metafases y contrae los cromosomas; es especialmente adecuado para cereales y más concretamente para trigo y centeno (SCHMUCK y KOSTOFF, 1939; OSTERGREN, 1944; O'MARA, 1948; BHADURI y GHOSH, 1954).

2.- Fijación.- A continuación se pasaron las raíces a ácido acético glacial y se almacenaron en él en frigorífico hasta su uso. El ácido acético glacial tiene un gran poder de penetración, precipita los ácidos nucleicos y disuelve las histonas (PISCHINGER, 1937).

3.- Tinción.- Se siguió la técnica de Feulgen. El material fijado se lavó en agua destilada y a continuación se le sometió a una hidrólisis ácida débil en ácido clorhídrico normal, durante 8-10 minutos, a temperatura controlada de 60°C. Tras la hidrólisis se volvieron a lavar las raíces en agua destilada y a continuación se introdujeron en Fucsina leucobásica, reactivo de Schiff (Fucsina básica decolorada con sulfu

roso), en que se mantuvieron hasta que adquirieron un color morado intenso. El método de Feulgen asegura una tinción específica del ADN (FEULGEN y ROSENBECK, 1924). La hidrólisis ácida extrae las purinas a nivel de la unión desoxirribosa-purina (adenina y guanina) del ADN, dejando libres los grupos aldehídicos de la desoxirribosa. Los grupos aldehídicos libres reaccionan con el reactivo de Schiff formándose un compuesto de color purpúreo (DIESTEFANO, 1948-52; LESSLER, 1953; KURNICK, 1955; SWIFT, 1955).

4.- Montaje de las preparaciones.- Las raíces teñidas - se cortaron en trocitos pequeños y se colocó cada uno de - ellos entre porta y cubre con una gota de orceína propiónica del 0,5%. A continuación se sometieron a un golpeteo suave - con la punta de un lápiz de goma para disociar las células y una vez conseguido ésto a una presión con la yema del dedo - para dispersar y separar los cromosomas dentro de ellas y ha - cer que se sitúen en un plano. A continuación se eligieron - las mejores placas metafásicas, las más disociadas, y se hi - zo un dibujo sobre el que se llevó a cabo el recuento cromo - sómico.

#### 2.3.2. Observación del apareamiento meiótico.

Para la observación del apareamiento cromosómico en la meiosis se hicieron preparaciones microscópicas de las células madres del polen de anteras de espigas en formación. Las espigas se tomaron antes del espigado, cuando estando aún en el interior de la vaina, daban a ésta un aspecto engrosado. Las observaciones sobre el apareamiento cromosómico se hicieron analizando un mínimo de 25 células madres del polen en -

la primera metafase (MI) de la meiosis. Las preparaciones se obtuvieron según el siguiente procedimiento:

1.- Fijación y conservación.- Las espigas en formación recogidas durante los meses de abril y mayo, se fijaron con Carnoy 3:1 (alcohol etílico-ácido acético glacial) durante - 12 a 24 horas, después se pasaron a alcohol de 96° durante - dos horas, nuevamente alcohol de 96° durante 12 horas y finalmente se almacenaron en alcohol de 70° en frigorífico has ta su uso. La mezcla de Carnoy (CARNOY, 1886; KIHARA, 1927; SMITH, 1943 y LA COUR, 1944) penetra rápidamente en el interior de las células y actúa muy activamente como fijador de las estructuras cromosómicas que se van a estudiar.

2.- Tinción.- Se siguió la técnica de Feulgen ya explicada en el recuento cromosómico, con la diferencia de que el tiempo de la hidrólisis fue de 6-8 minutos.

3.- Montaje de las preparaciones.- Las anteras teñidas se montaron, una por preparación, entre porta y cubre con - una gota de orceína propiónica del 0,5%. Para la localización de los estados meióticos se tuvieron en cuenta dos observaciones:

- todas las C.M.P. de una misma antera, y las 3 anteras de la misma flor, suelen estar en el mismo estado de la meiosis,
- existe una gradación en la madurez de las flores, y - por tanto de la meiosis, a) dentro de la espiguilla - (primera flor más madura que la segunda y ésta más que

la tercera), y b) a lo largo de la espiga, estando las flores centrales de la misma con madurez más avanzada y decreciendo ésta hacia los extremos superior e inferior de la espiga.

Las preparaciones se montaron por aplastamiento al igual que para el recuento cromosómico.

## 2.4. METODOS DE OBSERVACION DE LA FERTILIDAD

### 2.4.1. Fertilidad del polen

Entre los dos métodos utilizados para el estudio de la fertilidad de los granos de polen, tinción del contenido de los granos y germinación del tubo polínico, hemos escogido el primero por su mayor sencillez y rapidez. El método se describe a continuación:

1.- Recogida del polen.- Se tomaron anteras a punto de dehiscencia de espigas maduras de cada planta y se colocaron en tubos numerados, tapados con una bola de algodón, almacenándose durante varias semanas hasta su desecación.

2.- Obtención de las preparaciones.- Una vez desecadas las anteras estaban a punto para su utilización. Se tomó una antera por preparación, rompiéndola sobre el porta para que el polen se esparciera sobre su superficie; una vez eliminados los restos de antera se procedió a la tinción del contenido de los granos de polen colocando sobre ellos una gota de la mezcla de Müntzing, solución 1% de carmín con una mezcla de ácido acético del 45% y glicerina, a partes iguales,



dejando reposar las preparaciones, una vez colocado el cubre, durante un mínimo de 2 horas.

3.- Observación de la fertilidad.- Se basa en el hecho - de que los granos no teñidos (vacíos de contenido) son estériles, mientras que los teñidos (llenos) germinarían prácticamente todos. Se hizo una estimación de la fertilidad mediante un recuento de un mínimo de 300 granos y calculando las proporciones relativas de fértiles y estériles.

#### 2.4.2. Fertilidad floral

Para la estimación de la fertilidad floral de cada planta se procedió al recuento del número de espiguillas y al de granos de cada espiga y, si cada espiguilla tuviera dos granos, el cociente de los dos números obtenidos, multiplicado - por 100 nos daría un 100% de fertilidad. La fórmula que hemos utilizado es:

$$F = \frac{n \times 100}{E \times 2}$$

Siendo n el número de granos obtenidos en la espiga principal de cada planta, y E el número de espiguillas de la misma, ~~de~~ sechando las dos o tres primeras y últimas, que no alcanzan la madurez. Los valores de fertilidad superiores al 100% se deben al cuajado de granos en las flores centrales de cada espiguilla.

#### 2.5. METODOS DE OBSERVACION MORFOLOGICA

Con objeto de estimar el grado de conversión de las plan

tas utilizadas hacia los trigos duros cultivados, utilizados como polinizadores, se hizo un estudio comparando las características morfológicas de cada planta con las del cultivar utilizado como polinizador en los sucesivos retrocruzamientos de sustitución.

Los caracteres cualitativos observados son los siguientes:

- tallo: forma del cuello
- espiga: posición en la madurez; forma de la cara y del perfil; anchura relativa de la cara y perfil; espiguillas
- aristas: tamaño; color; rugosidad; caducidad
- glumas: color; velloso; carena; hombro y seno; nervaduras; diente apical; diente secundario
- lemma: anchura relativa de la gluma y lemma
- grano: color; forma

Para el análisis de estos caracteres se siguió la clasificación del Catálogo Genético de Trigos Españoles de SANCHEZ-MONGE (1957).

Los caracteres cuantitativos estudiados son, longitud del raquis y número de espiguillas por espiga, los que a su vez sirven para estimar la longitud media de los artejos (relación longitud del raquis/número de espiguillas) y densidad (número de espiguillas/longitud del raquis).

## 2.6. MÉTODOS DE OBSERVACION HISTOLOGICA

Se han utilizado para observar la histogénesis de las anteras en una forma aloplásmica androestéril de T. turgidum L.

cultivar durum sobre citoplasma de T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi y compararla con la del recurrente masculino.

La forma androestéril utilizada fue:

ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>4</sup>

Para el estudio comparativo se han usado anteras en siete estadios sucesivos de su desarrollo, tomando como testigo del mismo la marcha de la microsporogénesis para los cinco - primeros, C.M.P. en:

- premeiosis,
- profase I,
- metafase I a diadas,
- tetradas a polen recién formado,
- polen I (carente de exina),

y las fases del espigado para los dos últimos:

- polen II (con intina, exina y poro), y
- polen III (antes de la dehiscencia).

Para más exactitud se han tomado siempre anteras de primera flor (flor lateral), utilizándose una para verificar el estado de la marcha de la microsporogénesis y las otras dos - para la obtención de los cortes, habiéndose realizado cortes completos para los estadios posteriores a la formación del po len.

Las medidas de longitud y anchura celular y diámetros tan gencial y radial del núcleo se tomaron con un ocular micromé-

trico, midiéndose 25 células del tapete para cada estado del desarrollo.

Para el estudio histológico se han llevado a cabo cortes al microtomo de anteras y flores completas de las formas androestériles y fértiles, de 15 micras de espesor. Entre las técnicas de tinción seguidas por varios autores, hematoxilina de Heidenhain (DUBEY y SINGH en lino androestéril, 1965; - CHAUHAN y SINGH en trigo hexaploide androestéril, 1966), cristal-violeta y eritrosina (JOPPA, McNEAL y WELSH en trigo hexaploide aloplásmico sobre T. Timopheevi Zhuk., 1966), hematoxilina-safranina-Fast Green (SINGH y HADLEY en sorgo, 1961), se ha adoptado la última por ser la que ofreció mejores resultados al aplicarla al material aquí estudiado. Para la obtención de las preparaciones se siguió el procedimiento que a continuación se detalla:

1.- Fijación y conservación.- Carnoy 3:1 y alcohol de -70° en frigorífico.

2.- Deshidratación.- Se pasó el material fijado a través de una serie de alcoholes de concentración creciente hasta - llegar a alcohol absoluto, con objeto de eliminar el agua del tejido a tratar; a continuación se pasó por mezclas de concentración decreciente de alcohol absoluto y creciente de alcohol butílico hasta llegar a butílico absoluto, disolvente orgánico que acepta la inclusión en parafina.

3.- Infiltración de parafina.- Las anteras incluidas en butílico se colocaron en parafina fundida a 60°C, donde se mantuvieron hasta la evaporación total del butílico.

4.- Inclusión en parafina.- A continuación se hicieron los bloques de parafina con las anteras en su interior, pasando el material a un vidrio de reloj caliente y dejando que se solidificase la parafina.

5.- Cortes al microtomo.- Una vez obtenidas las cintas de cortes seriados de  $15\ \mu$  de espesor se colocaron sobre portas a los que se había añadido albúmina de Mayer como adhesivo y unas gotas de agua para facilitar la colocación de los trozos de cinta.

6.- Desparafinado.- Antes de proceder a la tinción se eliminó la parafina, sumergiendo consecutivamente las preparaciones en dos cubetas conteniendo xilol y a continuación se pasaron a xilol-alcohol y alcohol absoluto.

7.- Rehidratación.- Se pasaron las preparaciones por cubetas conteniendo concentraciones decrecientes de alcohol y crecientes de agua.

8.- Tinción.- Se pasaron las preparaciones a una cubeta conteniendo hematoxilina de Delafield donde se mantuvieron tres minutos. A continuación se procedió a una deshidratación parcial mediante pases por cubetas conteniendo concentraciones crecientes de alcohol hasta concentración del 70%, con objeto de proceder a la tinción con safranina (colorante alcohólico), en el que se mantuvieron las preparaciones 10 minutos; a continuación se deshidrataron totalmente los cortes pasándolos por concentraciones alcohólicas crecientes hasta alcohol absoluto y se sometieron las preparaciones al tercer colorante, Fast-Green, durante 10 segundos. La hematoxilina tiñe

las paredes celulósicas y de pectina de azul violeta, la safranina tiñe los núcleos de rojo y el Fast-Green el citoplasma de verde.

9.- Montaje de las preparaciones.- Las preparaciones se hicieron permanentes montándolas con Depex, tras unos pases por aceite de clavo, aceite de clavo-xilol, y xilol.

## 2.7. METODOS DE OBSERVACION DEL CONTENIDO PROTEINICO EN ANTERAS

Con objeto de detectar el posible diferente comportamiento a nivel proteínico de las anteras en los estadios postmeióticos en formas aloplásmicas androestériles y sus correspondientes parentales recurrentes fértiles, y con el fin de obtener más información sobre las causas de la inviabilidad del polen, se ha tratado de hacer un análisis comparativo de proteínas totales en los estadios del desarrollo de las anteras posteriores a la meiosis:

- cuando las espigas aún no se manifestaban al exterior (pero las C.M.P. de las flores extremas habían pasado la meiosis), y
- una vez espigadas.

Se tomaron siempre anteras correspondientes a flores laterales de las espiguillas centrales de la espiga, con objeto de disminuir al mínimo la asincronía en el desarrollo floral.

Los materiales que se compararon fueron los siguientes:

Androestéril

Androfértil

ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>n</sup>, con Alonso Pérez Jurado

Las anteras recogidas se introdujeron inmediatamente en tubos herméticos y fueron sumergidas en baño de congelación - (-60°C.) y tras ésto, numeradas y almacenadas en congelador - hasta su uso.

Para el análisis proteínico se realizó electroforesis de disco, con columnas de gel de acrilamida, siguiendo las técnicas descritas por ALAN y SANDAL (1969) en un estudio de contenido proteínico en anteras de sorgo androestéril, y adaptándola a anteras de trigo.

1.- Extracción de las proteínas.- Se utilizaron 10 miligramos de anteras (unas 20), a las que se añadió 100 µl. de solución tampón Tris-Glicina a pH = 8,3 homogeneizando en baño de hielo y ultrasonido durante 1 hora y centrifugando a 1.200 xg. durante 15 minutos.

2.- Electroforesis de disco.- Se utilizaron tubos de 4 mm. de diámetro. Las columnas de poliacrilamida constaban de tres fases, la primera para aplicación de la muestra, de 15 mm. de longitud; la segunda era de gel espaciador (Tris-Temed-ClH 1N a pH 6,7: Cianogúm 12,5%: sacarosa del 40%: persulfato amónico del 1,12%, en las proporciones 1:2:4:1 respectivamente), de 15 mm. de longitud; y la tercera era el gel de recorrido, de poro más pequeño (Tris-Temed-ClH 1N a

pH = 8,9: Cianogúm del 28,735%: agua: persulfato amónico del 0,14%, en las proporciones 1:2:1:4 respectivamente), de 80 - mm. de longitud.

El tampón para las cubetas fue Tris-Glicina de pH = 8,3 diluido en agua en proporción 1 a 10 respecto a la solución - madre utilizada para extraer las proteínas.

Se aplicó corriente continua de 2,5 mA por tubo para el gel espaciador y 5 mA por tubo para el gel de recorrido, a temperatura ambiente.

3.- Tinción.- Se utilizó Coomassie Blue al 1% en etanol absoluto y ácido tricloroacético (T.C.A.) al 12% en agua, en las proporciones 1:19 en volumen.

4.- Detinción.- Se realizó cuando los geles llevaban 24 horas en tinción, y se utilizó como decolorante T.C.A. al 12% en agua.



### III.- R E S U L T A D O S

#### 1.- CITOLOGIA

Se efectuó el estudio citogenético del mayor número de plantas de que se dispuso para cada combinación núcleo-citoplásmica y generación de retrocruzamiento. El estudio realizado se basó en dos observaciones generales, número de cromosomas de cada planta y apareamiento en MI de la meiosis, y este último se utilizó para la estimación citogenética de la sustitución cromosómica y el grado de conversión hacia los trigos cultivados, así como para la discusión sobre la homeología de los genomios B y B'.

##### 1.1.- Recuento cromosómico

El recuento cromosómico se tomó como un dato selectivo - ya que el estudio citogenético en meiosis se realizó fundamentalmente en plantas con 28 cromosomas. La aneuploidía influye sobre las características fenotípicas morfológicas y altera la fertilidad y la regularidad meiótica.

En las 119 plantas en que se efectuó el recuento cromosómico sólo aparecieron tres números cromosómicos, que, por orden de mayor a menor frecuencia, fueron 28, 29 y 30. Todos figuran en la tercera columna de las Tablas 3 a 14, en las que se registran todos los resultados citológicos. Como norma general se puede adelantar que en las generaciones tercera y cuarta de retrocruzamiento el número de cromosomas de casi todas las plantas fue de 28.



Fot. 1.- Metafase de mitosis de una planta con 28 cromosomas



Fot. 2.- Metafase de mitosis de una planta con 29 cromosomas



Fot. 3.- Metafase de mitosis de una planta con 29 cromosomas

## 1.2.- Apareamiento en la primera metafase (MI) de la meiosis

El estudio del apareamiento meiótico se efectuó en MI y se encaminó a dilucidar el grado de diploidización alcanzado en el proceso de sustitución del núcleo de T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi por el de los cultivares durum o turgidum de T. turgidum L. en cada generación de retrocruzamiento, y a la discusión sobre el tipo de apareamiento del segundo genoma de ambos grupos de trigos tetraploides, el genoma B' de Timopheevi y el B de los trigos tetraploides cultivados.

### 1.2.1.- Apareamiento meiótico durante los retrocruzamientos de sustitución como índice de la conversión hacia los trigos cultivados

En cada una de las 89 plantas en que fue analizado el apareamiento meiótico se estudiaron las siguientes características:

- número máximo y mínimo de univalentes (I) por célula
- número medio de I por célula
- número máximo y mínimo de bivalentes (II) por célula
- número medio de II abiertos ( { ) por célula
- número medio de II cerrados ( ♦ ) por célula
- número medio de II por célula
- relación número medio de II abiertos/número medio de II
- número máximo y mínimo de trivalentes (III) por célula
- número medio de III por célula
- número máximo y mínimo de cuádrivalentes (IV) por célula

- número medio de IV por célula
- número medio total de II por célula
- número medio de quiasmas por célula

Todas estas características figuran en las columnas - cuarta a quince de las Tablas 3 a 14, en la columna siguiente se indica el número de MI en que se llevaron a cabo las - observaciones.

1.2.1.1.- ET1 x Blanco de Corella<sup>n</sup>. - Los resultados relativos al apareamiento meiótico se registran en la Tabla 3. Se han - estudiado dos plantas de segundo retrocruzamiento ( $n = 3$ ) y - cinco de tercero ( $n = 4$ ).

El número de cromosomas para las 7 plantas fue de 28.

El apareamiento meiótico fue muy alto y mayor para las - cinco plantas de tercer retrocruzamiento que para las de se- gundo. A continuación resumimos los resultados sobre patrones de asociación.

Univalentes. - No hubo más que en la planta 18-2 de segun da generación de retrocruzamiento, con un número medio de I - por C.M.P. y números mínimo y máximo de 1, 0 y 4 respectiva- mente.

Bivalentes. - El número medio de II por célula fue muy - alto, 14 y 13,48 para las dos plantas de segundo retrocruza- miento y 14 para todas las de tercero. El número de II abier- tos por célula y la relación II abiertos/número medio de II

## OBSERVACIONES EN MI DE MEIOSIS

FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	I			II			Nº medio total de quiasmas por cel.
			Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	f por cel.	Nº medio por cel.	f por cel.	
ET1 x Blanco de Corella <sup>3</sup>	18-1	28	-	-	-	0,90	13,10	14	0,06428
	18-2	28	0-4	1,04	12-14	2,16	11,32	13,48	0,16023
ET1 x Blanco de Corella <sup>4</sup>	39-1	28	-	-	-	2,70	11,30	14	0,19285
	39-2	28	-	-	-	1,80	12,20	14	0,12857
	39-3	28	-	-	-	2,30	11,70	14	0,16428
	39-4	28	-	-	-	1,40	12,60	14	0,10000
	39-6	28	-	-	-	1,90	12,10	14	0,15702
									28,70
									26,36
									28,70
									28,80
									29,30
									28,50
									28,90

Tabla 3.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET1 x Blanco de Corella<sup>n</sup>.

mostró ligeras variaciones de unas plantas a otras y prácticamente ninguna de una generación de retrocruzamiento a la siguiente.

Trivalentes y Cuadivalentes..- No se observaron estos tipos de asociación. En consecuencia, el número medio total de II coincide con el número medio dado en el apartado anterior.

Número de quiasmas por célula..- Es prácticamente 2 por - II en las cinco plantas de tercera generación y en la 18-1 de segunda, siendo algo inferior en la planta 18-2.

Los valores registrados en la Tabla 3 y sucesivas, relativos al número medio de quiasmas por célula se basan en la - consideración de que los bivalentes abiertos poseen un quiasma y los cerrados 2, 3 ó 4 según su morfología. La no coincidencia del número registrado y el que se derivaría de la suma del número de bivalentes abiertos (1 quiasma) y cerrados multiplicado por 2 (2 quiasmas) se debe a que en los bivalentes cerrados incluimos también los que poseen 3 ó incluso 4 quiasmas.

El número de MI analizadas fue de 25 para las plantas de tercer retrocruzamiento y 10 para las de cuarto.

1.2.1.2.- ET1 x Enano de Jaén<sup>n</sup>.- Los resultados vienen registrados en la Tabla 4. Se han estudiado seis plantas, cuatro - de segundo retrocruzamiento ( $n = 3$ ), una de tercero ( $n = 4$ ) y una de cuarto ( $n = 5$ ).

Entre las plantas de segundo retrocruzamiento surgió una de 29 cromosomas, el resto tenían 28.

El apareamiento meiótico, como corresponde al nivel de sustitución, fue ya muy alto en la segunda generación de retrocruzamiento, aunque inferior en general que en la combinación ET1 x Blanco de Corella<sup>3</sup>. Los resultados relativos al apareamiento se indican a continuación:

Univalentes.- De las tres plantas de 28 cromosomas de la tercera generación de retrocruzamiento, aparecieron en dos, en una de ellas con un número medio por célula relativamente alto, 2,20; habiéndose dado MI con 0 a 6 univalentes. La planta de tercer retrocruzamiento mostró un número medio de 0,27 y en la de cuarto no se observaron univalentes.

Bivalentes.- En las tres plantas del segundo retrocruzamiento se dan dos con 14 bivalentes (la 9-4 con 13,72; se puede considerar 14) y una con 13 II (la 9-3, 12,84). En la planta de tercer retrocruzamiento el número de II por célula fue igualmente de 14 (la 39-1, 13,77) y en la de cuarto también se dieron 14 (la 63-1). El número de II abiertos y la relación II abiertos/número medio de II, mostró, a excepción de la planta 9-2, una variación de una generación a la siguiente en el sentido de menor número de bivalentes abiertos y menor valor de la relación II abiertos/número medio de II.

Trivalentes y Cuadivalentes.- No se observaron cuadivalentes. En cuanto a los trivalentes aparecieron sólo en dos plantas, la 9-3 de segundo retrocruzamiento y en la 37-1 de tercero, pero con una frecuencia muy baja, como se deduce del

OBSERVACIONES EN MI DE MEIOSIS														
FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	I		II					III		Nº medio total de II	Nº de quiasmas por cel.	Nº d estu da
			Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	f por cel.	o por cel.	Nº medio por cel.	f Nº medio	Números límites	Nº medio por cel.			
ET1xEnano de Jaén <sup>3</sup>	9 - 1	29	-	-	-	0,77	13,23	14	0,05500	-	-	14	27,88	1
	9 - 2	28	-	-	-	2,60	10,24	12,84	0,20249	0 - 1	0,04	12,88	26,40	2
	9 - 3	28	0 - 6	2,20	11-14	2,60	11,12	13,72	0,18950	-	-	13,72	26,10	2
	9 - 4	28	0 - 2	0,56	13-14	2,60	12,33	13,77	0,10457	0 - 1	0,05	13,82	27,50	1
ET1xEnano de Jaén <sup>4</sup>	37 - 1	28	0 - 2	-0,27	12-14	1,44	13,10	14	0,06428	-	-	14	29,70	1
ET1xEnano de Jaén <sup>5</sup>	63 - 1	28	-	-	-	0,90				-	-			

Tabla 4.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET1 x Enano de Jaén<sup>n</sup>.



número medio por MI, 0,04 y 0,05 respectivamente, no dándose nunca células con más de un trivalente.

Número de quiasmas por célula.- Aumenta claramente de una generación de retrocruzamiento a la siguiente; así, de los valores 26,40 y 26,10 para segundo retrocruzamiento, se pasa a 27,50 y 29,70 para tercero y cuarto respectivamente.

1.2.1.3.- ET1 x Rubial de Liébana<sup>n</sup>.- Los resultados se registran en la Tabla 5. Para esta combinación citoplásmico-nuclear se han analizado las tres primeras generaciones, correspondiendo cuatro plantas al híbrido ( $n = 1$ ), diez al producto del primer retrocruzamiento ( $n = 2$ ) y una al del segundo ( $n = 3$ ).

El número de cromosomas fue de 28 para todas las plantas estudiadas, a excepción de una planta correspondiente al híbrido, de 29 (la 15-3).

El apareamiento meiótico mostró de nuevo valores altos, ya que en el híbrido se observaron plantas con 12 y hasta 13 bivalentes. A continuación se dan los resultados correspondientes a asociación cromosómica en MI.

Univalentes.- Aparecen en todas las plantas de la combinación híbrida con valores desde 2 a 5 por célula. Las plantas 15-1 y 34-1 son las que mostraron un grado mayor de asinapsis con 3,20 y 4,76 I por MI respectivamente y células con hasta 11 univalentes. De las cinco plantas del primer retrocruzamiento en las que se estudió la meiosis, se observaron univalentes en tres, aunque los números medios son ya notablemente inferiores a los del híbrido, 0,56; 0,98 y 0,20 para las -

plantas 35-1, 35-2 y 35-8, respectivamente. Por último, no aparecieron univalentes en la única planta analizada de segundo retrocruzamiento.

Bivalentes.- El número medio de II por célula, mostró variación entre las plantas de cada generación y entre las de una generación y la siguiente. En el híbrido es donde existe una mayor disparidad de apareamiento pero los valores son realmente altos, existiendo dos plantas con prácticamente 12 y otras dos con 13. En donde se vió una mayor variación es en los números medios de II abiertos y cerrados con plantas de 2 y de 5 II abiertos por célula. Tras el primer retrocruzamiento las plantas resultantes mostraron un apareamiento ya muy alto, siendo prácticamente de 14 el número medio de II por MI observadas (en las cinco plantas estudiadas los números medios de II por MI fueron 13,72; 13,52; 13,88; 13,84 y 14). El número de II abiertos es en general menor que en el híbrido. Tras el segundo retrocruzamiento la planta descendiente observada mostró regularidad meiótica total, con 14 bivalentes en la totalidad de las MI analizadas. El número de II abiertos por célula descendió a sólo uno. En cuanto a la relación II abiertos /número medio de II los resultados están en consonancia al número medio de II abiertos observados y la tendencia es hacia la disminución de una generación a la siguiente.

Trivalentes y Cuadivalentes.- Los trivalentes se han observado en el híbrido y en la primera generación de retrocruzamiento; en el primero se observó en tres de las cuatro plantas estudiadas con frecuencias relativamente bajas; tras el retrocruzamiento disminuye el número medio y la frecuencia, ya

FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	I		II		III		IV		Nº medio total de II	Nº de quiasmas por cel.	Nº de M estudia das
			Números límites	Nº medio por cel.	Nº medio por cel.	Nº medio por cel.	Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	Nº medio por cel.			
ET1xRrubial de Liebana	15 - 1	28	0 - 11	3,20	7 - 14	4,19	7,49	11,68	0,35873	0 - 2	0,48	-	95
	15 - 2	28	0 - 4	2,32	11 - 14	2,70	10,02	12,72	0,21226	0 - 1	0,08	-	25
	15 - 3	29	0 - 4	1,68	11 - 14	5,30	7,66	12,96	0,40895	0 - 1	0,44	0,04	25
	34 - 1	28	0 - 8	3,72	9 - 14	2,32	9,68	12,00	0,19333	0 - 1	0,09	-	13
ET1xRrubial de Liebana <sup>2</sup>	35 - 1	28	0 - 2	0,56	13 - 14	1,40	12,32	13,72	0,10204	-	-	-	25
	35 - 2	28	0 - 4	0,98	12 - 14	2,84	10,68	13,52	0,21005	-	-	-	25
	35 - 4	28											
	35 - 5	28	-	-	11 - 14	2,40	11,48	13,88	0,17291	0 - 2	0,08	-	25
	35 - 6	28											
	35 - 8	28	0 - 2	0,20	12 - 14	2,80	11,04	13,84	0,20231	0 - 1	0,04	-	25
	35 - 9	28											
ET1xRrubial de Liebana <sup>3</sup>	35 - 11	28	-	-	-	3,12	10,88	14	0,22285	-	-	-	10
	35 - 13	28											
	35 - 14	28											
ET1xRrubial de Liebana <sup>3</sup>	45 - 1	28	-	-	-	1,00	13,00	14	0,07142	-	-	-	25

Tabla 5.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento neitóico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET1 x Rubial de Liebana<sup>n</sup>.

que de las cinco plantas estudiadas sólo aparecieron en dos. Tras el segundo retrocruzamiento en la única planta analizada, ya no se dan trivalentes. Se encontraron cuadrivalentes - en una planta correspondiente al híbrido, pero con una frecuencia muy baja, 0,04 IV por célula.

Número de quiasmas por célula.- En el híbrido fue muy bajo, entre 20 y 22, lo que concuerda con el grado de asinapsis y mayor proporción de II abiertos. En las plantas de la segunda generación el número de quiasmas se elevó considerablemente, con valores entre 25 y 29 y en la planta de la tercera generación el número de quiasmas por célula alcanzó un valor superior llegando a 29,60.

1.2.1.4.- ET1 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup>.- Los resultados se registran en la Tabla 6. Se ha estudiado una planta correspondiente al híbrido y once a la segunda generación de retrocruzamiento ( $n = 3$ ).

El número de cromosomas para todas las plantas analizadas fue de 28.

Los resultados obtenidos en el apareamiento vuelven a ser elevados. La planta 5-1, correspondiente al híbrido, dió un número medio aproximado de II por célula igual a 12. A continuación se indican en detalle los resultados correspondientes a las asociaciones cromosómicas en MI.

Univalentes.- Aparecieron univalentes en el híbrido y en casi todas las plantas de la tercera generación. El número me

OBSERVACIONES EN MI DE MEIOSIS															
FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	I		II						III		Nº medio total de II	Nº de quiasmas por cel.	Nº d esta- da
			Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	{ por cel.	Ø por cel.	Nº medio por cel.	{ Nº medio	Números límites	Nº medio por cel.				
ET1xRubio de Córdoba	5 - 1	28	0 - 8	3,04	10 - 14	3,80	8,44	12,24	0,31045	0 - 1	0,16		21,40	12,40	25
ET1xRubio de Córdoba <sup>3</sup>	36 - 1	28	-	-	-	2,00	12,00	14	0,14285	-	-		29,50	14	25
	36 - 3	28	0 - 4	1,56	12 - 14	1,72	11,44	13,16	0,13069	0 - 1	0,04		25,80	13,20	25
	36 - 6	28	0 - 2	1,33	13 - 14	2,71	10,62	13,33	0,20330	-	-		25,33	13,33	21
	36 - 9	28	0 - 6	2,92	11 - 14	2,56	9,92	12,48	0,20512	0 - 1	0,04		23,24	12,52	25
	36 - 11	28	0 - 4	1,92	12 - 14	2,00	11,04	13,04	0,15337	-	-		24,16	13,04	25
	36 - 12	28	-	-	-	2,56	11,44	14	0,18285	-	-		27,40	14	10
	36 - 13	28	-	-	-	2,47	10,93	13,40	0,18432	-	-		25,04	13,40	25
	36 - 14	28	0 - 2	1,20	13 - 14	3,90	10,10	14	0,27857	-	-		24,90	14	10
	36 - 16	28	-	-	-	2,00	12,00	14	0,14285	-	-		26,40	14	10
	46 - 1	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-
	46 - 2	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-

Tabla 6.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET1 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup>.

dio de I por célula fue de 3 en el híbrido y de 0-8 los números mínimo y máximo observados, siendo los números más frecuentes de 1 y 2 en las plantas de segundo retrocruzamiento.

Bivalentes..- El número medio de II en el híbrido fue de 12 y en las plantas de segundo retrocruzamiento fue de 13 - (36-3, 36-6, 36-9, 36-11 y 36-14) y 14 (36-1, 36-13, 36-16 y 46-2). El número medio de II abiertos también disminuyó del híbrido al segundo retrocruzamiento, a excepción de la planta 36-16 que mostró un número medio de II abiertos por célula muy parecido al del híbrido, con la salvedad de tener una regularidad meiótica total, 14 II en todas las MI analizadas. La relación II abiertos/número medio de II abiertos, descendió considerablemente del híbrido al producto de segundo retrocruzamiento.

Trivalentes y Cuadivalentes..- No aparecieron cuadivalentes en ninguna de las once plantas estudiadas, y sin embargo sí se dieron trivalentes en tres, en el híbrido y en dos plantas de segundo retrocruzamiento, siendo sus valores medios por célula de 0,16 (5-1) y 0,04 (36-3 y 36-9) y por tanto superiores al correspondiente al cruzamiento entre los dos parentales.

Número de quiasmas por célula..- Fue de 21 en el híbrido, y entre 24 y 29 en segundo retrocruzamiento.

1.2.1.5.- ET1 x Solacambre<sup>n</sup>.- Los resultados de esta combinación citoplásmico-nuclear se registran en la Tabla 7. Se han estudiado dieciocho plantas de segunda generación de retrocruzamiento ( $n = 3$ ), trece de tercero ( $n = 4$ ) y una de cuar-

ta ( $n = 5$ ).

En cuanto al número cromosómico esta combinación citoplásmico-nuclear es una de las que han mostrado mayor frecuencia de aneuploides, ya que cuando para segundo retrocruzamiento lo observado para otras combinaciones es un número de 28, para este material se han observado cuatro plantas - con 29 cromosomas de un total de dieciocho, y en la generación siguiente volvió a aparecer el número de 29 cromosomas en dos de las trece plantas estudiadas. La planta de cuarto retrocruzamiento mostró 28 cromosomas.

Los resultados obtenidos en apareamiento demuestran - una inestabilidad meiótica alta en la segunda generación de retrocruzamiento, y es de suponer que fuese mayor en el híbrido y primer retrocruzamiento. De las dieciocho plantas - de segundo retrocruzamiento analizadas, ninguna alcanzó los 14 bivalentes por célula, y sin embargo hubo dos con 12 y - dieciseis con 13. A continuación se amplian estas observaciones relativas al apareamiento meiótico.

Univalentes.- Todas las plantas de segundo y tercer - retrocruzamiento mostraron univalentes en sus meiosis. El - número medio de I por célula disminuyó de la tercera a la - cuarta generación de retrocruzamiento como se puede observar a la vista de los datos de las columnas cuarta y quinta de la Tabla 7. La planta que mostró más asinapsis fue la - 7-17 de segundo retrocruzamiento y 29 cromosomas, con un número medio de I por C.M.P. igual a 5,16.

Bivalentes.— El número de II por MI fue de 11 (7-17), 12 (7-3) y 13 (todas las demás), en la segunda generación de retrocruzamiento, con números medios desde 11,12 hasta 13,52. Estos valores se pueden calificar de bajos si tenemos en cuenta que se trata en teoría de plantas con un grado medio de sustitución cromosómica. Tras un nuevo retrocruzamiento la estabilidad meiótica aumentó algo, pero no hasta alcanzar la regularidad total en ninguna de las plantas analizadas: el número medio de II por célula fue de 13,04 a 13,96; es decir, todas las plantas tenían alguna asinapsis y el número de II por célula alcanzó prácticamente los 14 en seis plantas de las trece analizadas. Por último, la planta estudiada de cuarta generación de retrocruzamiento dio 14 II en todas las MI estudiadas. En cuanto al número de II abiertos y la relación II abiertos/número medio de II hay también una disminución de una generación a la siguiente; así para la citada relación, los valores en segundo retrocruzamiento dan de 0,11437 a 0,34710; para tercer retrocruzamiento están comprendidos entre 0,06590 y 0,19819; y la planta de cuarto retrocruzamiento dio un valor de 0,04285.

Trivalentes y Cuadivalentes.— Los trivalentes aparecieron con mayor frecuencia tras el segundo retrocruzamiento, poseyéndolos ocho de las trece plantas de esta generación, con un número medio por MI próximo a 1 en más de la mitad de las plantas que los presentaron. Las tres plantas de 29 cromosomas de la segunda generación cuya meiosis se estudió, presentaban trivalentes. En la tercera generación de retrocruzamiento sólo cuatro de las trece plantas estudiadas tenían trivalentes en sus meiosis y con número medio por célula muy



FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	CROMO- SOMICO	I		II		III		IV		Nº medio Nº de quiasmas por cel.	Nº de M estadia das		
			NÚMEROS límites	Nº medio por cel.	NÚMEROS límites	Nº medio por cel.	NÚMEROS límites	Nº medio por cel.	NÚMEROS límites	Nº medio por cel.				
ET1xSolacambre <sup>3</sup>	7-3	28	2-4	3,20	11-13	4,20	7,90	12,10	0,34710	0-1	0,20	12,30	21,80	10
	7-4	28	1-6	1,96	11-13	2,40	19,72	12,12	0,19801	0-1	0,60	12,72	24,10	25
	7-5	28	0-4	1,28	11-14	2,75	9,89	12,64	0,21756	0-1	0,48	13,12	24,60	25
	7-6	29												
	7-7	28												
	7-8	28												
	7-9	28	0-4	1,36	11-14	1,40	10,84	12,24	0,11437	0-1	0,72	12,96	27,20	25
	7-11	28												
	7-12	28	0-4	1,88	10-14	3,20	8,76	11,96	0,26755	0-2	0,68	12,68	20,70	25
	7-13	28	0-2	1,36	12-14	2,80	9,68	12,48	0,22435	0-1	0,56	13,04	26,00	25
	7-14	28	1-4	1,32	12-13	1,70	10,50	12,20	0,13934	0-1	0,76	12,96	25,50	25
ET1xSolacambre <sup>4</sup>	7-15	29	0-3	1,32	12-14	1,50	11,38	12,88	0,11645	0-1	0,64	13,52	28,30	25
	7-16	28												
	7-17	29	1-9	5,16	9-14	3,10	8,03	11,12	0,27877	0-1	0,48	11,64	22,30	25
	7-18	29	2-4	2,48	11-13	3,80	8,44	12,24	0,31045	0-1	0,68	12,96	26,00	25
	7-19	28	0-4	2,00	12-14	2,70	10,30	13,00	0,20769	-	-	13,00	24,30	25
	7-20	28	0-4	0,96	12-14	1,60	11,92	13,52	0,11834	-	-	13,52	28,80	25
	7-21	28	0-4	2,32	12-14	3,40	9,44	12,84	0,26479	-	-	12,84	22,20	25
	38-1	28	0-4	1,92	12-14	1,68	11,36	13,04	0,12883	-	-	13,04	26,76	25
	38-2	28	0-4	0,80	12-14	2,24	11,28	13,52	0,16568	0-1	0,04	13,56	26,48	25
	38-3	28	0-4	1,28	12-14	1,96	11,32	13,28	0,14893	0-1	0,04	13,32	25,80	25
	38-4	28	0-4	1,12	12-14	2,04	11,40	13,44	0,15178	-	-	13,44	25,68	25
38-5	28	0-4	0,56	12-14	2,28	11,44	13,72	0,16618	-	-	13,72	27,24	25	
38-6	28	0-2	0,72	13-14	1,96	11,68	13,64	0,14369	-	-	13,64	26,12	25	
38-7	28	0-2	0,08	13-14	0,92	13,04	13,96	0,06590	-	-	13,96	29,00	25	
38-8	28	0-4	1,36	12-14	2,64	10,68	13,32	0,19819	-	-	13,32	25,32	25	
38-9	28	0-2	1,36	13-14	1,72	11,60	13,32	0,12912	-	-	13,32	26,96	25	
38-10	28	0-4	0,64	12-14	2,16	11,52	13,68	0,15789	-	-	13,68	27,96	25	
38-11	28	0-2	0,40	13-14	2,32	11,48	13,80	0,16811	-	-	13,80	27,80	25	
41-1	29	1-3	0,64	12-14	2,08	11,32	13,40	0,15522	0-1	0,52	13,92	26,56	25	
41-2	29	0-1	0,30	13-14	1,30	12,00	13,30	0,09774	0-1	0,28	13,58	28,10	10	
ET1xSolacambre <sup>5</sup>	64-1	28	-	-	-	0,60	13,40	14	0,04285	-	-	14	29,30	10

Tabla 7.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.F. de ET1 x Solacambre<sup>3</sup>

inferior a la generación anterior. No aparecieron trivalentes en la meiosis de la planta estudiada de cuarta generación de retrocruzamiento.

Los cuadrivalentes sólo aparecieron en dos plantas (7-12 y 7-17), una de 28 y otra de 29 cromosomas, correspondientes a la segunda generación de retrocruzamiento y dándose con un número medio por célula muy bajo, 0,04.

Número de quiasmas por célula..- Hay un claro incremento de cada generación de retrocruzamiento a la siguiente. Así - en la segunda los números medios de quiasmas por C.M.P. van de 20,70 a 28,80; en tercera de 25,68 a 29,00 y la planta de cuarta generación dio un valor de 29,30. Este dato está en - relación con el aumento de la estabilidad meiótica observado (menor porcentaje de asinapsis).

1.2.1.6. ET82 x Alonso<sup>n</sup>.- Los resultados se registran en la Tabla 8. Se han estudiado cuatro generaciones sucesivas, el híbrido y los tres primeros retrocruzamientos ( $n = 1, 2, 3$  y  $4$ ), habiéndose analizado dos, siete, una y una plantas para cada generación, respectivamente.

El número de cromosomas fue de 28, a excepción de una - planta correspondiente al primer retrocruzamiento que mostró 29.

El estudio del apareamiento meiótico demostró que éste era muy alto ya en el híbrido, las dos plantas tenían prácticamente 13 bivalentes por C.M.P. y en consecuencia también -

se alcanzó pronto una estabilidad meiótica alta. A continuación damos los resultados relativos al comportamiento cromosómico durante la MI.

Univalentes.— Los univalentes fueron observados en todas las plantas estudiadas, a excepción de la de segundo retrocruzamiento (47-4), siendo el número medio más alto el correspondiente a una planta híbrida, con prácticamente 3 univalentes por MI; tras el primer retrocruzamiento el número de I por MI más frecuente fue de 1, habiendo una planta con prácticamente 2 (2-1), y otra prácticamente sin univalentes (2-4). Por último la planta de tercera generación de retrocruzamiento mostró también una media de I por MI muy baja, 0,14.

Bivalentes.— Según se observó el apareamiento meiótico — fue alto en el híbrido: una planta con 12 y otra con 13 II por C.M.P. significan un apareamiento cromosómico elevado. Los números medios de II por C.M.P. correspondientes al primer retrocruzamiento subieron aún más, llegando a observarse una — planta con una media de 13,92 por MI. En la siguiente generación la planta estudiada mostró 14 por C.M.P. y en la de tercer retrocruzamiento también fueron prácticamente 14.

El número medio de II abiertos por C.M.P. y la relación II abiertos con respecto al número medio descendió de una generación a la siguiente. Así en el híbrido el valor de la citada relación fue de 0,19534 y 0,23558; en primer retrocruzamiento de 0,15804 a 0,20767; en segundo de 0,09285 y en tercero de 0,10086.

## OBSERVACIONES EN MI DE MEIOSIS

FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	I			II			III			Nº medio total de II	Nº medio por cel.	Nº de quiasmas por cel.
			Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	Nº medio por cel.	Nº medio por cel.	Nº medio por cel.	Números límites	Nº medio por cel.	Nº medio por cel.			
ET 82xAlonso	1 - 1	28	0 - 6	1,35	11 - 14	2,60	10,71	13,31	0,19534	0 - 1	0,01	13,32	26,50	1
	1 - 2	28	0 - 7	2,77	9 - 14	2,90	9,41	12,31	0,23558	0 - 1	0,20	12,51	25,40	
ET 82xAlonso <sup>2</sup>	2 - 1	28	0 - 5	1,96	10 - 14	2,30	10,66	12,96	0,17746	0 - 1	0,04	13,00	24,50	
	2 - 2	29	0 - 3	0,92	12 - 14	2,70	10,30	13,00	0,20769	0 - 1	0,72	13,72	27,20	
	2 - 3	28												
	2 - 4	28	0 - 2	0,16	13 - 14	2,20	11,72	13,92	0,15804	-	-	13,92	26,70	
	2 - 5	28												
	2 - 6	28	0 - 2	1,16	12 - 14	2,10	11,14	13,24	0,15861	0 - 1	0,12	13,36	27,20	
ET 82xAlonso <sup>3</sup>	2 - 7	28	0 - 2	1,00	12 - 14	2,70	10,74	13,44	0,20089	0 - 1	0,04	13,48	26,70	
	47 - 4	28	-	-	-	1,30	12,70	14	0,09285	-	-	14	27,50	
ET 82xAlonso <sup>4</sup>	56 - 1	28	0 - 2	0,14	13 - 14	1,40	12,48	13,88	0,10086	-	-	13,88	27,70	

Tabla 8.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET82 x Alonso<sup>n</sup>.

Trivalentes y Cuadivalentes.— Los trivalentes aparecieron en las dos plantas híbridas y en cuatro de las cinco de primer retrocruzamiento en que se estudió la meiosis. El número medio de III por C.M.P. fue en general muy bajo, a excepción de la planta 2-2, de 29 cromosomas que mostró prácticamente 1 trivalente por cada MI estudiada. No se observaron trivalentes ni en segundo ni en tercer retrocruzamiento.

No hubo cuadivalentes en ninguna planta.

Número de quiasmas por célula.— Este valor aumentó ligeramente de una generación a la siguiente. Así en el híbrido el número de quiasmas por C.M.P. fue de 25,40 a 26,50; en primer retrocruzamiento fue de 24,50 a 27,20; en segundo 27,50 y en tercero 27,70; lo que está de acuerdo con el incremento en la estabilidad meiótica.

1.2.1.7.— ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>n</sup>.— Los resultados de esta combinación citoplásmico-nuclear figuran en la Tabla 9. — El número de plantas de que se dispuso fue muy pequeño debido a la baja fertilidad floral y escaso poder germinativo de la semilla obtenida, no obstante se han podido estudiar tres generaciones de retrocruzamiento, de la primera ( $n = 2$ ) dos plantas, y de las segunda y tercera ( $n = 3$  y  $4$ ) una planta de cada una.

El número cromosómico fue de 29 y 28 para las dos plantas de primer retrocruzamiento y 28 para las de segundo y tercero.

El apareamiento meiótico fue alto y en aumento de una generación a la siguiente.

OBSERVACIONES EN MI DE MEIOSIS										
FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	CROMO- SOMICO	I			II				
			Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	Nº medio por cel.	Nº medio por cel.	Nº medio por cel.	Nº medio total de II	Nº de MI de quiasmas por cel.
ET82XA <sub>1</sub> onso Pérez Jurado <sup>2</sup>	10 - 1 10 - 2	29 28	0 - 8	1,12	10 - 12	3,00	10,44	13,44	13,44	24,60
ET82XA <sub>2</sub> onso Pérez Jurado <sup>3</sup>	48 - 2	28	0 - 2	0,14	13 - 14	1,83	12,05	13,88	13,88	26,40
ET82XA <sub>3</sub> onso Pérez Jurado <sup>4</sup>	57 - 1	28	-	-	-	1,30	12,70	14	14	29,10
										25
										25
										25

Tabla 9.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET 82 x Alonso Pérez Jurado<sup>n</sup>.

Univalentes.- Hay univalentes en la planta de 28 cromosomas de primer retrocruzamiento, llegando a encontrarse algunas MI con hasta 8 univalentes. Sin embargo el número medio de I por C.M.P. es próximo a 1. En la planta de segundo retrocruzamiento (48-2) el número medio de I por C.M.P. disminuyó considerablemente, a 0,14. En la planta de tercer retrocruzamiento no hubo univalentes.

Bivalentes.- Al igual que disminuyeron los univalentes de una generación a la siguiente, aumentó el apareamiento. Así el número medio de II por C.M.P. para las tres plantas analizadas correspondientes a primer, segundo y tercer retrocruzamiento fue de 13,44; 13,38 y 14 respectivamente. El número medio de II abiertos y la relación II abiertos con respecto al número medio disminuyeron también de generación en generación, siendo los valores para la primera observación de 10,44; 12,05 y 12,70 y para la segunda 0,22321; 0,13184 y 0,09285; respectivamente, de una generación a la siguiente.

Trivalentes y Cuadrivalentes.- No se dieron asociaciones multivalentes en ninguna de las plantas estudiadas.

Número de quiasmas por célula.- El número de quiasmas por C.M.P. y al igual que ocurría en todos los materiales anteriores aumentó conforme transcurrían las generaciones, pasando por los valores 24,60; 26,40 y 29,10 para primera, segunda y tercera generación de retrocruzamiento respectivamente.

1.2.1.8.- ET82 x Fartó Rubio<sup>n</sup>.- Para esta combinación citoplásmico-nuclear sólo se han estudiado tres plantas correspondientes al híbrido ( $n = 1$ ) y una de segunda generación de retrocru-

zamiento ( $n = 3$ ), y los resultados se registran en la Tabla 10.

El número cromosómico de las formas híbridas fue de 28. La planta de segunda generación de retrocruzamiento mostró  $\neq$  también 28 cromosomas.

El apareamiento en el híbrido fue dispar ya que de las dos plantas estudiadas una tenía prácticamente 12 bivalentes por C.M.P. y la otra 14. Tras dos retrocruzamientos la estabilidad meiótica fue total.

Univalentes.— Los univalentes aparecieron en las dos plantas de 28 cromosomas correspondientes al híbrido, llegando a observarse hasta 6 I en una MI en la planta 11-1 y hasta 4 I en la 11-3. Sin embargo el número medio de I fue muy bajo en las dos plantas. No aparecieron univalentes en la planta correspondiente a la segunda generación de retrocruzamiento.

Bivalentes.— El número medio de II por C.M.P. fue de 11,60 y 13,70 en las formas híbridas, lo que representa un apareamiento elevado entre los cromosomas de las dos especies implicadas; por otra parte este número creció hasta 14 en la segunda generación de retrocruzamiento. Paralelamente, los números de II abiertos y II abiertos/número medio de II disminuyeron al pasar del híbrido al segundo retrocruzamiento ya que de 3,80 y 1,50 II abiertos en el híbrido se pasó a 0,60 tras dos retrocruzamientos; y al mismo tiempo de 0,32758 y 0,10940 II abiertos/número medio de II se pasó a 0,04285.





Trivalentes y Cuadivalentes.- Sólo aparecieron trivalentes en las dos plantas analizadas correspondientes al híbrido pero con una frecuencia muy baja, 0,16 y 0,01.

No se observaron cuadivalentes en ninguna de las tres - plantas de esta combinación citoplásmico-nuclear.

Número de quiasmas por célula.- Fue en aumento de una generación a otra lo que está en consonancia con la disminución de la asinapsis y del número medio de II abiertos por C.M.P. Así de 20,60 y 27,10 se pasó a 30,20 del híbrido a la segunda generación de retrocruzamiento.

1.2.1.9.- ET82 x Las Palmas 7<sup>n</sup>. - Se han estudiado tres generaciones de retrocruzamiento sucesivas ( $n = 2, 3$  y  $4$ ), habiéndose observado ocho plantas para la primera y una para la segunda y tercera. Los resultados sobre el apareamiento figuran en la Tabla 11.

El número cromosómico fue de 28, 29 y 30 en el primer retrocruzamiento, presentándose respectivamente en cinco, dos y una plantas, y de 28 en las dos plantas de las dos generaciones siguientes.

La meiosis se mostró altamente regular tras el primer retrocruzamiento, con un número medio de II por C.M.P. mayor de 13, y alcándose la total estabilidad en la siguiente generación. A continuación se detallan los resultados relativos al apareamiento meiótico.

Univalentes.- Sólo aparecen en la planta 3-1, de 28 cromosomas, que es la única de la que se analizó la meiosis en el primer retrocruzamiento. El número medio de I no obstante, no fue muy alto, inferior a 1. En las dos generaciones de retrocruzamiento posteriores no aparecieron univalentes.

Bivalentes.- El número medio de II por C.M.P. fue en aumento al realizar un nuevo retrocruzamiento, y así los valores correspondientes a las tres generaciones sucesivas estudiadas fueron 13,60; 14 y 14. Así mismo el número de II abiertos y la relación de II abiertos/número medio de II disminuyó notablemente en favor de los bivalentes con dos y hasta tres quiasmas, pasando el número de II abiertos por C.M.P. de 3,00 a 1,20 y de este valor a 0,70 en las tres generaciones sucesivas estudiadas, y la relación II abiertos/número medio de II de 0,22058 a 0,08571 y de este valor a 0,05000.

Trivalentes y Cuadivalentes.- Sólo aparecieron trivalentes en la planta de primera generación de retrocruzamiento - analizada, pero con una frecuencia de 0,08; lo que significa que sólo aparecieron dos trivalentes en el total de las 25 MI estudiadas.

No hubo asociaciones cuadivalentes en ninguna de las tres plantas analizadas.

Número de quiasmas por célula.- Este número también aumentó en el transcurso del proceso de retrocruzamientos y de sustitución, siendo para las tres generaciones estudiadas de 25,80; 27,50 y 28,50 respectivamente.

OBSERVACIONES EN MI DE MEIOSIS											
FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	I			II			III		Nº medio total de II
			Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	Nº medio por cel.	Nº medio por cel.	Nº medio por cel.	Números límites	Nº medio por cel.	
ET82xLas Palmas 7 <sup>2</sup>	3 - 1	28	0 - 3	0,56	11 - 14	3,00	10,60	13,60	0 - 1	0,08	25,80
	3 - 2	28									
	3 - 3	28									
	3 - 4	29									
	3 - 6	29									
	3 - 7	28									
	3 - 8	30									
	3 - 9	28									
	50 - 2	28	-	-	-	1,20	12,80	14	-	-	14
ET82xLas Palmas 7 <sup>3</sup>											27,50
ET82xLas Palmas 7 <sup>4</sup>	58 - 1	28	-	-	-	0,70	13,30	14	-	-	14
											28,50

Tabla 11.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET82 x Las Palmas 7<sup>n</sup>.

1.2.1.10.- ET82 x Recio de Baza<sup>11</sup>.- Se han estudiado las tres primeras generaciones sucesivas de retrocruzamiento y los resultados relativos al comportamiento meiótico de las mismas se registran en la Tabla 12. Las cinco plantas estudiadas corresponden, tres a primer retrocruzamiento ( $n = 2$ ), y una a cada generación de retrocruzamiento posterior ( $n = 3$  y  $4$ ).

El recuento cromosómico mostró que las cinco plantas analizadas tenían 28 cromosomas.

El apareamiento meiótico fue ya muy alto en el primer retrocruzamiento, con valores relativos al número medio de II por C.M.P. próximos a 14; en las dos generaciones siguientes estos valores fueron muy parecidos. A continuación se resumen los resultados sobre el apareamiento.

Univalentes.- Los univalentes aparecieron en las cinco plantas estudiadas de esta combinación citoplásmico-nuclear, observándose en la población celular analizada desde 0 a 2 I por C.M.P. en cuatro plantas (14-1, 14-2 de primer retrocruzamiento, 51-2 de segundo y 59-1 de tercero), y de 0 a 4 I por C.M.P. en una planta (14-3 de primer retrocruzamiento). A pesar de este cierto grado de asinapsis los números medios de I por C.M.P. fueron inferiores a 1.

Bivalentes.- El número medio de II por C.M.P. fue superior a 13 en todas las plantas estudiadas, lo que indica que no existe prácticamente variación de una generación a otra. En lo que sí se observó variación fue en el número de II abiertos y en la relación II abiertos/número medio de II; estos valores disminuyeron lo que se tradujo en un aumento de la esta

OBSERVACIONES EN MI DE MEIOSIS															
FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	I		II						III		Nº medio total de II	Nº de quiasmas por cel.	Nº de est.
			Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	f por cel.	◊ por cel.	Nº medio por cel.	f Nº medio	Números límites	Nº medio por cel.				
ET82xRecio de Baza <sup>2</sup>	14 - 1	28	0 - 2	0,24	13 - 14	2,30	11,58	13,88	0,16570	-	-	-	13,88	26,70	
	14 - 2	28	0 - 2	0,36	18 - 14	2,00	11,76	13,76	0,14534	0 - 1	0,04	-	13,80	27,40	
	14 - 3	28	0 - 4	0,64	12 - 14	1,60	12,08	13,68	0,11695	-	-	-	13,68	27,60	
ET82xRecio de Baza <sup>3</sup>	51 - 2	28	0 - 2	0,48	13 - 14	2,70	11,06	13,76	0,19622	-	-	-	13,76	24,60	
	59 - 1	28	0 - 2	0,48	13 - 14	0,75	13,01	13,76	0,05450	-	-	-	13,76	29,33	

Tabla 12.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET82 x Recio de Baza<sup>n</sup>.

bilidad meiótica, pero sólo si se observan los resultados de la primera y tercera generación de retrocruzamiento. Así para la primera el número medio de II abiertos por C.M.P. fue de 1,60 a 2,30 y en la tercera de 0,75. Paralelamente en la primera el valor de la relación de este número con respecto al número medio de II fue de 0,11695 y 0,16570; mientras que en la tercera generación fue de 0,05450.

Trivalentes y Cuadrivalentes.— Sólo aparecieron trivalentes en una planta de la primera generación de retrocruzamiento (14-2), y sólo 1 en una C.M.P. del total de la población celular analizada.

No se observaron cuadrivalentes en la meiosis de ninguna planta de esta combinación citoplásmico-nuclear.

Número de quiasmas por célula.— Este número aumenta de la primera a la tercera generación de retrocruzamiento, pasando de 26,70 a 27,60 observado en la primera a 29,33 en la tercera. La planta correspondiente a la segunda generación de retrocruzamiento mostró un valor inferior a los de la primera generación.

1.2.1.11.— ET82 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup>.— Los resultados se registran en la Tabla 13. Se han utilizado dos generaciones sucesivas de retrocruzamiento, la primera ( $n = 2$ ) y la segunda ( $n = 3$ ), habiéndose observado siete plantas de la primera y una de la segunda.

El recuento cromosómico dio como resultado seis plantas de 28 cromosomas y una de 29 en la primera generación de re-

trocruzamiento, y 28 para la de segunda.

El apareamiento meiótico mostró poca uniformidad entre las cuatro plantas correspondientes al primer retrocruzamiento, existiendo plantas con 11, 12, 13 y 14 II por C.M.P. La planta del segundo retrocruzamiento mostró 14 II en todas las C.M.P. analizadas. A continuación se comentan estos resultados.

Univalentes.- Tres plantas del primer retrocruzamiento demostraron tener un cierto grado de asinapsis, presentándose univalentes en un número medio de 1,44 a 2,76 por C.M.P. Las dos plantas restantes mostraron una estabilidad meiótica total (una planta pertenecía al primer retrocruzamiento y la otra al segundo).

Bivalentes.- Como queda dicho, hubo una gran disparidad de resultados en cuanto al apareamiento tras el primer retrocruzamiento, siendo los valores del número medio de II por C.M.P. de 11,48 a 14 (una planta). En el retrocruzamiento siguiente la planta estudiada mostró 14 II por cada MI analizada. En lo que hubo diferencias notorias al pasar de un retrocruzamiento al siguiente fue en el número medio de II abiertos y en su relación al número medio de II. Así para la primera de estas observaciones se pasó de valores comprendidos entre 2,90 y 4,30 a un valor de 2,00; y en cuanto a la relación de esto al número medio, los valores en primer retrocruzamiento estuvieron comprendidos entre 0,21969 y 0,35245 y en segundo el valor obtenido fue de 0,14283.



OBSERVACIONES EN MI DE MEIOSIS														
FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	I		II					III		Nº medio total de II	Nº de quiasmas por cel.	Nº de M estudia das
			Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	f por cel.	o por cel.	Nº medio por cel.	f Nº medio	Números límites	Nº medio por cel.			
ET22xRubio de Córdoba	6-1	28	0 - 3	1,44	11 - 14	4,30	7,90	12,20	0,35245	0 - 2	0,72	22,90	25	
	6-2	28	0 - 3	1,24	11 - 14	2,90	10,30	13,20	0,21969	0 - 1	0,12	24,10	25	
	6-3	28												
	6-4	29												
	6-5	28												
ET22xRubio de Córdoba	6-6	28	1 - 5	2,76	10 - 13	3,70	7,78	11,48	0,32229	0 - 1	0,76	23,00	25	
	6-7	28	-	-	-	3,30	10,70	14	0,23571	-	-	25,30	10	
	52-1	28	-	-	-	2,00	12,00	14	0,14285	-	-	26,40	10	

Tabla 13.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET 82 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup>.

Trivalentes y Cuadivalentes.- Los trivalentes sólo aparecieron en las tres plantas de la primera generación de retrocruzamiento que mostraron asinapsis parcial llegando a ser el número medio de III por C.M.P. próximo a 1 en dos plantas (6-1 y 6-6), con valores de 0,72 y 0,76. En el resto de las plantas no hubo trivalentes.

No se observaron cuadivalentes en ninguna de las plantas analizadas.

Número de quiasmas por célula.- Aumentó de la primera generación de retrocruzamiento a la segunda, pasando de valores comprendidos entre 22,90 y 25,30 a 26,40; lo que concuerda con la disminución del número medio de II abiertos y del grado de asinapsis.

1.2.1.12.- ET82 x Rubión de Higuera<sup>n</sup>.- Se recogió material del híbrido ( $n = 1$ ), primer ( $n = 2$ ) y segundo ( $n = 3$ ) retrocruzamiento, una, una y dos plantas respectivamente; los resultados se registran en la Tabla 14.

El número de cromosomas fue de 28 en el híbrido, de 29 en la planta de primer retrocruzamiento y de 28 para las dos plantas de segundo retrocruzamiento.

Aunque se sembró todo el material de que se dispuso no hubo buena germinación del grano obtenido y de ahí el escaso número de plantas utilizadas en esta combinación. Tampoco se obtuvieron buenas preparaciones del híbrido por lo que figuran en blanco en la Tabla 14 los resultados correspondientes a esta planta.

El apareamiento en la planta de primer retrocruzamiento fue muy alto con un número de II por C.M.P. superior a 13, - aún teniendo 29 cromosomas y alcanzándose la estabilidad meiótica tras el segundo retrocruzamiento. A continuación se detallan los resultados sobre apareamiento meiótico.

Univalentes.- Sólo se dieron univalentes en la planta de 29 cromosomas correspondiente a primera generación de retrocruzamiento. El número medio de I por C.M.P. fue próximo a 1, 0,96 y encontrándose células con hasta cinco univalentes.

Bivalentes.- El número medio de I por C.M.P. en la primera generación de retrocruzamiento fue de 13,32 y en segunda de 14, habiéndose ganado por tanto un bivalente en el paso de una a otra generación. El número de II abiertos y la relación de éste con respecto al número medio, disminuyeron al pasar de la primera a la segunda generación de retrocruzamiento. Así el primer valor mostró el siguiente descenso, de 3,52 a 2,44; y el segundo pasó de 0,26426 a 0,17428.

Trivalentes y Cuadrivalentes.- Las asociaciones multivalentes sólo ocurrieron en la planta de primer retrocruzamiento, siendo los números medios de trivalentes y cuadrivalentes por C.M.P. de 0,12 y 0,04 respectivamente.

Número de quiasmas por célula.- Aumentó de generación en generación, siendo los dos números por MI observados de 24,56 y 27,20 respectivamente para primer y segundo retrocruzamiento.

OBSERVACIONES EN MI DE MEIOSIS																	
	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	I			II					III		IV		Nº medio total de II	Nº de quiasmas por cel.	Nº de estadi- os
			Números límites	Nº medio por cel.	Números límites	{ por cel.	{ por cel.	Ø por cel.	Nº medio por cel.	{ Nº medio	Números límites	Nº medio por cel.					
FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO																	
ET82xRubiñ de Higueruela	31 - 1	28															
ET82xRubiñ de Higueruela	42 - 1	29	0 - 5	0,96	11 - 14	3,52	9,80	13,32	0,26426	0 - 1	0,12	10, - 1	10,04	13,48	24,56	25	
ET82xRubiñ de Higueruela	53 - 1	28															
	53 - 2	28	-	-	-	2,44	11,56	14	0,17428	-	-	-	-	14	27,20	25	

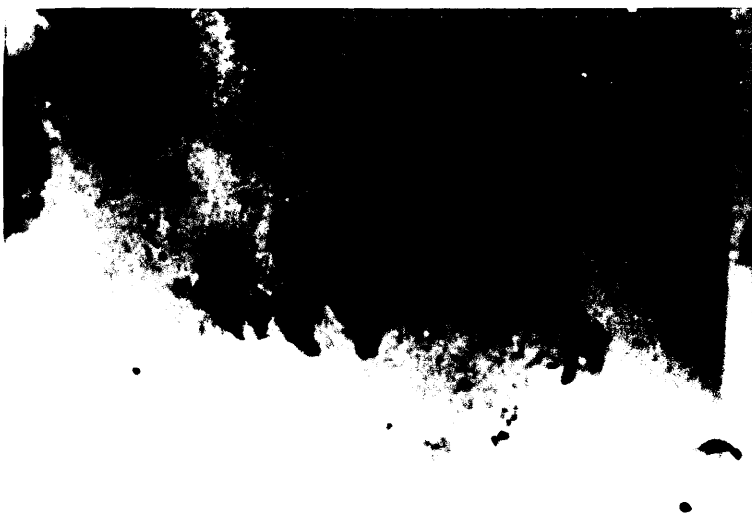
Tabla 14.- Resultados del recuento cromosómico y apareamiento meiótico en primera metafase de las C.M.P. de  
ET82 x Rubiñ de Higueruela<sup>n</sup>.



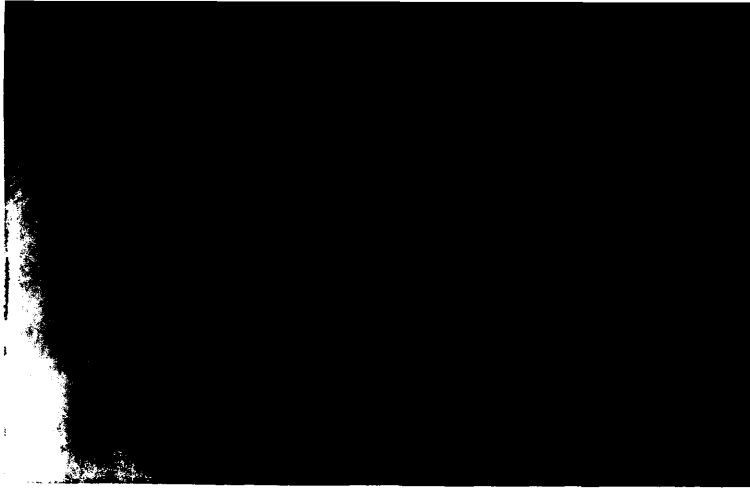
Fot. 4.- MI de meiosis con 14 II (28 cromosomas)



. 5.- MI de meiosis con 14 II; 6 II terminalizados (28 crom.)



Fot. 6.- MI de meiosis con 14 II (28 cromosomas)



t. 7.- MI de meiosis con 14 II; 1 II terminalizado (28 crom.)



Fot. 8.- MI de meiosis con 14 II (28 cromosomas)



. 9.- MI de meiosis con 14 II; 2 II terminalizados (28 crom.)



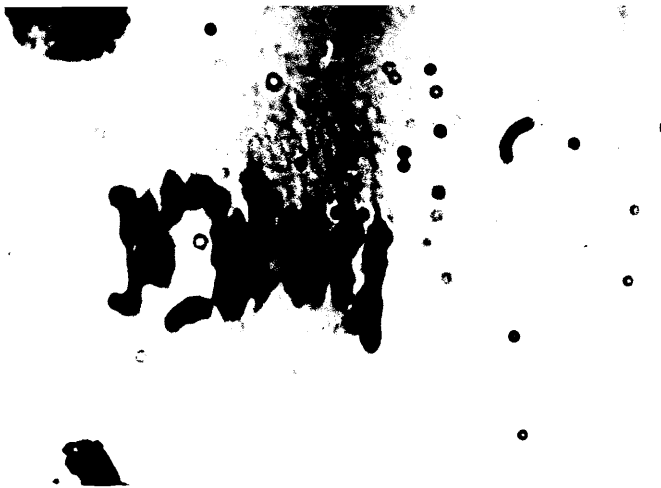
Fot. 10.- MI de meiosis con 13 II + 2 I (28 cromosomas)



Fot. 11.- MI de meiosis con 13 II + 2 I (28 cromosomas)



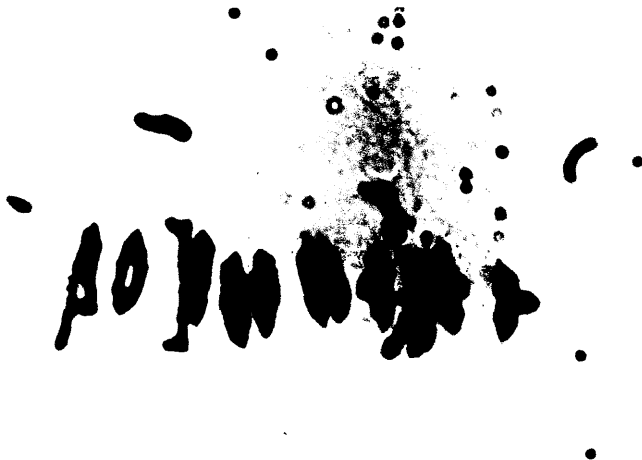
Fot. 12.- MI de meiosis con 13 II + 2 I (28 cromosomas)



Fot. 13.- MI de meiosis con 1 III + 12 II + 1 I (28 crom.)



Fot. 14.- MI de meiosis con 12 II + 4 I (28 crom.)



Fot. 15.- MI de meiosis con 1 III + 12 II + 2 I (29 crom.)



### 1.2.2.- Apareamiento homeólogo entre los genomios B y B'. Modelos matemáticos

Los resultados observados en la primera metafase de la meiosis de las plantas híbridas y sucesivos retrocruzamientos, registrados en las Tablas 3 a 14, demuestran que existe apareamiento entre los genomios homeólogos B y B'.

En efecto el híbrido entre T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi y cada uno de los cultivares españoles de T. turgidum L. utilizado, tendrá la constitución cromosómica:

- 7 pares de cromosomas del genomio A
- 7 cromosomas individuales del genomio B
- 7 cromosomas individuales del genomio B'

y por tanto hay un número mínimo y fijo de 7 bivalentes en la meiosis. El resto de los bivalentes observados se forman a costa del apareamiento entre los genomios B y B'.

En las polinizaciones reiteradas que se realizan conservando el citoplasma Timopheevi, se van introduciendo más cromosomas B a expensas de los B', hasta que hay una sustitución total del núcleo de aquella subespecie por el de cada cultivar turgidum.

Por tanto y partiendo del hecho de que hay apareamiento homeólogo entre los dos genomios, cabía el preguntarse si este apareamiento era cromosoma a cromosoma, indiscriminada o discriminadamente y por lo tanto si los cambios estructurales que hipotéticamente han originado las diferencias entre estos

genomios influyen en el apareamiento, lo que sería posible - si hubiese habido un gran número de translocaciones o si por el contrario la asinapsis observada en el híbrido y sucesivos retrocruzamientos no viene tan influenciada por los cambios estructurales como por cambios intragénicos en genes reguladores del apareamiento.

Para resolver la pregunta sobre si el apareamiento extra observado era discriminado, o sea cada cromosoma de B - aparee con uno determinado de B', o indiscriminado, o sea - cada cromosoma de B lo hace indistintamente con cualquiera del genomio B', ~~se aplican~~ se aplican dos modelos matemáticos a las 89 - plantas en que se estudió la meiosis, uno para cada una de - las siguientes hipótesis:

a) A cada cromosoma del genomio B corresponde uno del - B' con el que aparee ocasionalmente. Hay discriminación en - el apareamiento.

b) Cada cromosoma del genomio B puede aparear ocasionalmente con cualquiera del genomio B'. Indiscriminación en el apareamiento.

A continuación se describen, junto al modo de empleo, - los modelos matemáticos para cada caso:

a) Discriminación. - Llamando  $p$  a la probabilidad de que un cromosoma  $B_i$  aparee con su homeólogo  $B'_i$ ,  $(1 - p)$  sería la probabilidad de que no apareara. Las probabilidades teóricas de los posibles tipos de asociación en MI vendrán dadas por el desarrollo binomial de:

$$[p + (1 - p)]^n$$

donde n representa el número de bivalentes extra que se pueden formar sobre el número mínimo de bivalentes encontrados en la meiosis de cada planta. Se calcula restando de 14 el número mínimo de bivalentes observados, que se suponen fijos y depende del grado de sustitución cromosómica alcanzado en el proceso de los retrocruzamientos de sustitución.

En las Tablas 15 a 20 se registran las probabilidades teóricas para cada tipo de asociación y la media teórica de apareamiento, p se calculó igualando la media teórica a la diferencia entre el valor medio total de bivalentes encontrados y el número mínimo de bivalentes observados.

b) Indiscriminación.— Llamando q a la probabilidad de que un cromosoma cualquiera del genomio B encuentre y forme bivalente con uno cualquiera del B':

El primer bivalente tiene una probabilidad  $7/7$  q de formarse y  $(1 - q)$  de no formarse; el segundo bivalente tiene una probabilidad  $6/7$  q de formarse y  $(1 - 6/7 q)$  de no formarse; el tercer bivalente tiene una probabilidad  $5/7$  q de formarse y  $(1 - 5/7 q)$  de no formarse; y así sucesivamente hasta el séptimo bivalente que tiene una probabilidad  $1/7$  q de formarse y  $(1 - 1/7 q)$  de no formarse.

Entonces 7 bivalentes sólo pueden formarse de una manera, que es el producto de todas las probabilidades de que sí se formen  $7!/7! q^7$ ; 6 bivalentes se pueden formar de 7 maneras, cuando sea el primero el que no se forme, el segundo, el ter

DE		
$7^{II}$	$p^7$	$\frac{1}{823543}(5040q^7)$
$6^{II}$	$7(p^6 - p^7)$	$\frac{1}{823543}(-35280q^7 + 91476q^6)$
$5^{II}$	$21(p^5 - 2p^6 + p^7)$	$\frac{1}{823543}(105840q^7 - 548856q^6 + 643468q^5)$
$4^{II}$	$35(p^4 - 3p^5 + 3p^6 - p^7)$	$\frac{1}{823543}(-176400q^7 + 1372140q^6 - 3217340q^5 + 2321767q^4)$
$3^{II}$	$35(p^3 - 4p^4 + 6p^5 - 4p^6 + p^7)$	$\frac{1}{823543}(176400q^7 - 1829520q^6 + 6434680q^5 - 9287068q^4 + 4705960q^3)$
$2^{II}$	$21(p^2 - 5p^3 + 10p^4 - 10p^5 + 5p^6 + p^7)$	$\frac{1}{823543}(-105840q^7 + 1372140q^6 - 6434680q^5 + 13930602q^4 - 14117880q^3 + 5411854q^2)$
$1^{II}$	$7(p - 6p^2 + 15p^3 - 20p^4 + 15p^5 - 6p^6 + p^7)$	$\frac{1}{823543}(35280q^7 - 548856q^6 + 3217340q^5 - 9287068q^4 + 14117880q^3 - 10823708q^2 + 3294172q)$
$0^{II}$	$(1 - 7p + 21p^2 - 35p^3 + 35p^4 - 21p^5 + 7p^6 - p^7)$	$\frac{1}{823543}(-5040q^7 + 91476q^6 - 643468q^5 + 2321767q^4 - 4705960q^3 + 5411845q^2 - 3294172q + 82354)$
MEDIA	$7p$	$4q$

Tabla 15.- Apareamiento  $7B \equiv 7B'$ .

$6^{II}$	$p^6$	$\frac{720}{46656}q^6$
$5^{II}$	$6(p^5 - p^6)$	$\frac{1}{46656}(-4320q^6 + 10584q^5)$
$4^{II}$	$15(p^4 - 2p^5 + p^6)$	$\frac{1}{46656}(10800q^6 - 52920q^5 + 58464q^4)$
$3^{II}$	$20(p^3 - 3p^4 + 3p^5 - p^6)$	$\frac{1}{46656}(-14400q^6 + 105840q^5 - 233856q^4 + 158760q^3)$
$2^{II}$	$15(p^2 - 4p^3 + 6p^4 - 4p^5 + p^6)$	$\frac{1}{46656}(10800q^6 - 105840q^5 + 350784q^4 - 476280q^3 + 226800q^2)$
$1^{II}$	$6(p - 5p^2 + 10p^3 - 10p^4 + 5p^5 - p^6)$	$\frac{1}{46656}(-4320q^6 + 52920q^5 - 233856q^4 + 476280q^3 - 453600q^2 + 163296q)$
$0^{II}$	$(1 - 6p + 15p^2 - 20p^3 + 15p^4 - 6p^5 + p^6)$	$\frac{1}{46656}(720q^6 - 10584q^5 + 58464q^4 - 158760q^3 + 226800q^2 - 163296q + 46656)$
MEDIA	6p	3,5q

Tabla 16.- Apareamiento  $6B \equiv 6B'$ .

DE

$5^{II}$   
 $p^5$

$$\frac{1}{3125}(120q^5)$$

$4^{II}$   
 $5(p^4 - p^5)$

$$\frac{1}{3125}(-600q^5 + 1370q^4)$$

$3^{II}$   
 $10(p^3 - 2p^4 + p^5)$

$$\frac{1}{3125}(1200q^5 - 5480q^4 + 5625q^3)$$

$2^{II}$   
 $10(p^2 - 3p^3 + 3p^4 - p^5)$

$$\frac{1}{3125}(-1200q^5 + 8220q^4 - 16875q^3 + 10625q^2)$$

$1^{II}$   
 $5(p - 4p^2 + 6p^3 - 4p^4 + p^5)$

$$\frac{1}{3125}(600q^5 - 5480q^4 + 16875q^3 - 21250q^2 + 9375q)$$

$0^{II}$   
 $(1 - 5p + 10p^2 - 10p^3 + 5p^4 - p^5)$

$$\frac{1}{3125}(-120q^5 + 1370q^4 - 5625q^3 + 10625q^2 - 9375q + 3125)$$

MEDIA

5p

3q

Tabla 17.- Apareamiento 5B  $\equiv$  5B'.

PROBABILIDADES DE	DISCRIMINADO	INDISCRIMINADO
${}^{\text{II}}_4$	$p^4$	$\frac{6^4}{64}q$
${}^{\text{II}}_3$	$4(p^3 - p^4)$	$\frac{1}{64}(-24q^4 + 50q^3)$
${}^{\text{II}}_2$	$6(p^2 - 2p^3 + p^4)$	$\frac{1}{64}(36q^4 - 150q^3 + 140q^2)$
${}^{\text{II}}_1$	$4(p - 3p^2 + 3p^3 - p^4)$	$\frac{1}{64}(-24q^4 + 150q^3 - 280q^2 + 160q)$
${}^{\text{II}}_0$	$(1 - 4p + 6p^2 - 4p^3 + p^4)$	$\frac{1}{64}(6q^4 - 50q^3 + 140q^2 - 160q + 64)$
MEDIA	4p	2,5q

Tabla 18.- Apareamiento  $4B \equiv 4B'$ .

PROBABILIDADES DE	DISCRIMINADO	INDISCRIMINADO
${}^{\text{II}}_3$	$p^3$	$\frac{1}{9}(2q^3)$
${}^{\text{II}}_2$	$3(p^2 - p^3)$	$\frac{1}{9}(-6q^3 + 11q^2)$
${}^{\text{II}}_1$	$3(p - 2p^2 + p^3)$	$\frac{1}{9}(6q^3 - 22q^2 + 18q)$
${}^{\text{II}}_0$	$(1 - 3p + 3p^2 - p^3)$	$\frac{1}{9}(9 - 18q + 11q^2 - 2q^3)$
MEDIA	3p	2q

Tabla 19.- Apareamiento  $3B \equiv 3B'$ .



PROBABILIDADES DE	DISCRIMINADO	INDISCRIMINADO
$2^{II}$	$p^2$	$\frac{1}{2}q^2$
$1^{II}$	$2(p-p^2)$	$\frac{1}{2}(3q-2q^2)$
$0^{II}$	$(1-2p+p^2)$	$\frac{1}{2}(2-3q+q^2)$
MEDIA	$2p$	$1,5q$

Tabla 20.- Apareamiento  $2B \equiv 2B'$ .

cero, etc.; 5 bivalentes se pueden formar de  $\binom{7}{2}$  maneras y - así sucesivamente.

Para el cálculo de las probabilidades teóricas correspondientes a cada tipo de asociación en MI, que se registran en las Tablas 15 a 20, fue necesario el concurso de un ordenador electrónico IBM. La media teórica de apareamiento sirve para el cálculo del valor de  $q$ , de la misma manera que para el caso de discriminación o sea igualándola a la diferencia entre el valor medio total de bivalentes y el número mínimo observado, y despejando  $q$ .

Antes de comentar los resultados obtenidos se indican - unas ideas tenidas en cuenta en la aplicación de dichos modelos:

- en el híbrido se consideró que el número fijo de bivalentes era siete, correspondiente al apareamiento entre sí de los dos genomas A, uno procedente de Timpheevi y el otro de los cultivares de turgidum,
- no obstante ninguna de las 9 plantas híbridas estudiadas arrojaron sólo siete bivalentes como número fijo, sino que el apareamiento fue superior como se discutirá más tarde,
- para las sucesivas generaciones de retrocruzamiento y ante la imposibilidad de conocer la auténtica constitución cromosómica por estar sometida a segregación - gamética del parental femenino (el polinizador siempre da 7 cromosomas A + 7 cromosomas B), se tomó como nú-

mero fijo, constante de bivalentes, el correspondiente a la placa metafásica con menor número de bivalentes,

- para los efectos de apareamiento y para la estimación de los valores de p y q se ha considerado cada trivalente como formado por un bivalente y un univalente, y cada cuadrivalente como formado por dos bivalentes,
- se considerará apareamiento discriminado cuando el valor de P correspondiente a la prueba de  $\chi^2$  que compara el apareamiento teórico esperado con el observado, no sea significativo, y sea superior al valor de P en la prueba relativa al caso de indiscriminación,
- las plantas con un número fijo o constante de 13 o 14 bivalentes, o sea con un par de cromosomas que aparean ocasionalmente o con apareamiento total, respectivamente, no sirven para dilucidar entre apareamiento discriminado o indiscriminado.

Para una mayor claridad en la exposición de los resultados se ha preferido agrupar las 89 plantas estudiadas según la generación a que pertenecen y no por su combinación citoplásmico-nuclear, ya que no se han observado diferencias en el tipo de apareamiento entre B y B' entre plantas pertenecientes a la misma generación pero de diferente fórmula citoplásmico-nuclear, según se discutirá más tarde.

En las Tablas 21 a 24 se registran los resultados sobre el tipo de apareamiento entre los genomios B y B', correspondientes al híbrido y sucesivos retrocruzamientos de sustitución.

ción. La distribución de datos en dichas Tablas de izquierda a derecha es la siguiente:

- fórmula citoplásmico-nuclear
- número de registro de la planta
- número de cromosomas que posee
- números medios de I, II, III y IV
- número medio total de II
- número fijo de II (del que depende el modelo matemático a aplicar)
- valor de p
- valor de q
- valor de P (  $> P >$  ) correspondiente al  $\chi^2$  para discriminación
- valor de P (  $> P >$  ) correspondiente al  $\chi^2$  para indiscrimination
- número de MI en que se basó la observación
- resultado respecto al tipo de apareamiento: discriminado o indiscriminado (queda en blanco cuando la planta correspondiente no es utilizable para determinar el tipo de apareamiento entre B y B').

1.2.2.1.- Apareamiento entre B y B' en el híbrido.- Los resultados relativos a las 9 plantas que reunían los núcleos de Timopheevi y turgidum se registran en la Tabla 21.

El número fijo de trivalentes se consideró de siete, no obstante el número mínimo de bivalentes observado en el total de las MI estudiadas fue muy superior en todas las plantas, ésto se refleja en el número medio de bivalentes comprendido entre 11,60 (planta 11-1) y 13,71 (planta 11-3) y en el

número medio total de bivalentes, dato utilizado en la estimación de p y q, comprendido entre 11,76 (planta 11-1) y 13,72 (planta 11-3).

El número de MI en que se basó la observación fue en algunas plantas superior a 25, utilizando siempre placas metafásicas que no ofrecieran dudas de observación, y tomando cuando se pudo hasta 100 MI.

Los valores de p (probabilidad de que un cromosoma  $B_i$  aparee y forme un bivalente con uno de  $B'_i$ ) para la hipótesis de discriminación, dependen directamente del número total de bivalentes y estuvieron comprendidos entre 0,68 (planta 11-1) y 0,96 (planta 11-3).

Los valores de q (probabilidad de apareamiento de un cromosoma  $B_i$  con cualquiera  $B'_i$ ) para la hipótesis de indiscriminación fueron para ocho plantas superiores a 1, y por tanto absurdos, y para una planta (la 15-3) de 0,96.

Una vez aplicado el modelo matemático de la Tabla 15 correspondiente a la estimación de las probabilidades teóricas de apareamiento en la población celular estudiada entre 7 cromosomas  $B_i$  y 7  $B'_i$  para ambas hipótesis, se compararon los valores observados con los esperados mediante un  $\chi^2$  para 6 g.l. El resultado obtenido fue el siguiente:

- las 9 plantas mostraron apareamiento discriminado.

FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	Nº medio de:				Nº medio total de II	Número fijo II	Nº de MI estudia- das	p =	q =	Discrimi- nación >P>	Indiscri- minación >P>	Resultado
			I	II	III	IV								
ET1 x Rubial de Liebana	15-1	28	3,20	11,68	0,48	-	12,16	7	25	0,78285	> 1	0,30-0,20	-	Discriminación
	15-2	28	2,32	12,72	0,08	-	13,00	7	25	0,85714	> 1	0,30-0,20	-	Discriminación
	15-3	29	1,68	12,96	0,44	0,04	13,44	7	25	0,92000	> 1	0,50-0,30	-	Discriminación
	34-1	28	3,72	12,00	0,09	-	12,09	7	75	0,72710	> 1	0,20-0,10	-	Discriminación
ET1 x Rubio de Córdoba	5-1	28	3,04	12,24	0,16	-	12,40	7	25	0,77142	> 1	0,30-0,20	-	Discriminación
ET82 x Alonso	1-1	28	1,35	13,31	0,01	-	13,32	7	100	0,90285	> 1	0,50-0,30	-	Discriminación
	1-2	28	2,77	12,31	0,20	-	12,51	7	45	0,78710	> 1	0,70-0,50	-	Discriminación
ET82 x Fartó Rubio	11-1	28	2,93	11,60	0,16	-	11,76	7	30	0,68000	> 1	0,10-0,05	-	Discriminación
	11-3	28	0,55	13,71	0,01	-	13,72	7	100	0,96000	> 1	0,98-0,95	-	Discriminación

Tabla 21.- El tipo de apareamiento entre B y B' en el híbrido T. Timopheevi Zhuk. x T. turgidum L.

1.2.2.2.- Apareamiento entre B y B' en la primera generación de retrocruzamiento.- Se han estudiado 20 plantas correspondientes a la constitución citoplásmico-nuclear Timopheevi x turgidum<sup>2</sup>, y los resultados referentes al apareamiento de B con B' se registran en la Tabla 22.

El número fijo de bivalentes, considerado en esta ocasión como el número mínimo de bivalentes observado, fue variable desde 11 hasta 14. El número medio total de bivalentes observados varió desde 12,24 a 14.

Para el estudio del apareamiento se analizó una población de 25 C.M.P. por planta, salvo las dos que mostraron 14 bivalentes en todas las C.M.P. en que se estudiaron 10.

Las plantas con 13 bivalentes y 14 bivalentes como número fijo de bivalentes se descartaron para el estudio sobre el tipo de homeología entre los genomios B y B'. En las 10 plantas restantes se estimaron los valores de p y q. Los valores de p estuvieron comprendidos entre 0,41333 y 0,84000 y los de q entre 0,61333 y 1,00000; habiendo tres plantas con valor de q mayor que la unidad.

Mediante las Tablas 19 y 20 se calcularon las probabilidades teóricas esperadas para cada patrón de asociación en las plantas con número de 11 y 12 bivalentes fijos respectivamente. A continuación se compararon los valores observados con los esperados mediante las correspondientes pruebas de  $\chi^2$  estimándose si la desviación era o no significativa para cada una de las dos hipótesis. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	Nº medio de:				Nº medio total de II	Número fijo de II	Nº de MI estudia- das	> p =	q =	Discrimi- nación >P>	Indiscri- minación >P>	Resul
			I	II	III	IV								
ET1 x Rubial de Liebana <sup>2</sup>	35-1	28	0,56	13,72	-	-	13,72	13	25	-	-	-	-	-
	35-2	28	0,98	13,52	-	-	13,52	12	25	0,76000	> 1	0,90-0,80	-	Discrimin
	35-5	28	-	13,88	0,08	-	13,96	13	25	-	-	-	-	-
	35-8	28	0,20	13,84	0,04	-	13,88	13	25	-	-	-	-	-
	35-11	28	-	14	-	-	14	14	10	-	-	-	-	-
ET82 x Alonso <sup>2</sup>	2-1	28	1,96	12,96	0,04	-	13,00	11	25	0,66666	1,00000	0,70-0,50	-	Discrimin
	2-2	29	0,92	13,00	0,72	-	13,72	13	25	-	-	-	-	-
	2-4	28	0,16	13,92	-	-	13,92	13	25	-	-	-	-	-
	2-6	28	1,16	13,24	0,12	-	13,36	12	25	0,68000	0,90600	0,95-0,90	0,80-0,70	Discrimin
	2-7	28	1,00	13,44	0,04	-	13,48	13	25	-	-	-	-	-
ET82 x Alonso P. Jurado <sup>2</sup>	10-2	28	1,12	13,44	-	-	13,44	12	25	0,72000	0,96000	0,80-0,70	0,30-0,20	Discrimin
	3-1	28	0,56	13,60	0,08	-	13,68	12	25	0,84000	> 1	0,90-0,80	-	Discrimin
	14-1	28	0,24	13,88	-	-	13,88	13	25	-	-	-	-	-
ET82 x Recio de Baza <sup>2</sup>	14-2	28	0,36	13,76	0,04	-	13,80	13	25	-	-	-	-	-
	14-3	28	0,64	13,68	-	-	13,68	12	25	0,84000	> 1	0,90-0,80	-	Discrimin
	6-1	28	1,44	12,20	0,72	-	12,92	12	25	0,46000	0,61333	0,01 P	0,05-0,02	-
	6-2	28	1,24	13,20	0,12	-	13,32	12	25	0,66000	0,88000	0,70-0,50	0,10-0,05	Discrimin
	6-6	28	2,76	11,48	0,76	-	12,24	11	25	0,41333	0,62000	0,50-0,30	0,50-0,30	-
ET82 x R. de Higuera <sup>2</sup>	44-2	28	-	14	-	-	14	14	10	-	-	-	-	-
	42-1	29	0,96	13,32	0,12	0,04	13,48	12	25	0,74000	0,98666	0,20-0,10	0,001>P	Discrimin

Tabla 22.- El tipo de apareamiento entre los genotipos B y B' en T. timopheevi Zhuk. x T. turgidum L.<sup>2</sup>.



- 2 plantas con 14 bivalentes en todas las MI estudiadas,
- 8 plantas con un mínimo de 13 bivalentes en todas las MI estudiadas,
- 7 plantas con un número fijo de 12 bivalentes que mostraron apareamiento discriminado,
- 1 planta con 12 bivalentes que mostró desviación significativa para las dos hipótesis,
- 1 planta con un número fijo de 11 bivalentes que mostró apareamiento discriminado,
- 1 planta con un número fijo de 11 bivalentes que mostró la misma desviación para discriminación que para indiscriminación.

Por lo tanto, de las 10 plantas en que se discutió el tipo de apareamiento hubo 8 para discriminación y 2 indistinguibles. De las 8 que mostraron discriminación 5 lo hicieron sin lugar a dudas y 3 por ser menor la desviación observada para esta hipótesis que para indiscriminación.

1.2.2.3.- Apareamiento entre B y B' en la segunda generación de retrocruzamiento.- Se han estudiado 35 plantas correspondientes a la segunda generación de retrocruzamiento y de fórmula general Timopheevi x turgidum<sup>3</sup>. Los resultados relativos al apareamiento de B con B' se registran en la Tabla 23.

El número fijo de bivalentes estuvo comprendido entre 9 y 14 y el número medio total de bivalentes entre 11,04 y 14. En general, los valores más bajos de apareamiento correspondieron a la combinación citoplásmico-nuclear ET1 x Solacambre<sup>3</sup> en la que ninguna de las 13 plantas estudiadas mostró un número fijo de 14 bivalentes.

El número de C.M.P. en MI estudiadas fue de 10 y 25 para plantas con apareamiento total, 14 bivalentes por C.M.P., y con cierta asinapsis, respectivamente.

Eliminando las plantas con 13 y 14 bivalentes como número mínimo constante, se estimó el apareamiento entre B y B' en las 15 plantas restantes. Los valores de p fueron desde 0,15000 hasta 0,76000 y los de q desde 0,20000 hasta 0,98666 y observándose una planta con valor de q superior a la unidad.

Se aplicaron los modelos matemáticos de las Tablas 17, 18, 19 y 20 para las plantas con 9, 10, 11 y 12 bivalentes fijos respectivamente y se estimaron las probabilidades teóricas de cada tipo de asociación en MI según discriminación o indiscriminación, y a continuación se estimó mediante  $\chi^2$  si la desviación entre las mismas y los valores observados era o no significativa. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- 12 plantas con 14 bivalentes en todas las MI estudiadas,
- 8 plantas con un mínimo de 13 bivalentes en todas las MI estudiadas,
- 7 plantas con un número fijo de 12 bivalentes que mostraron apareamiento discriminado,
- 3 plantas con un número fijo de 12 bivalentes que mostraron desviación significativa para las dos hipótesis,
- 1 planta con un número fijo de 12 bivalentes que mostró apareamiento indiscriminado,
- 2 plantas con un número fijo de 11 bivalentes que mostraron apareamiento indiscriminado,
- 1 planta con un número fijo de 11 bivalentes que mostró apareamiento discriminado,

NÚMERO	SOMICO	I	II	III	IV	I	das	P =	q =	P	P	Resultado
ET1 x Blanco de Corella <sup>3</sup>												
18-1	28	-	14	-	-	14	25	-	-	-	-	-
18-2	28	1,04	13,48	-	-	13,48	25	0,74000	0,98666	0,30-0,30	0,001	Discriminación
ET1 x Enano de Jén <sup>3</sup>												
9-2	28	-	14	-	-	14	10	-	-	-	-	-
9-3	28	2,20	12,48	0,04	-	12,88	11	0,62666	0,94000	0,30-0,20	0,50-0,30	Indiscriminación
9-4	28	0,56	13,72	-	-	13,72	13	-	-	-	-	-
ET1 x Rubial de Liebana <sup>3</sup>												
45-1	28	-	14	-	-	14	25	-	-	-	-	-
ET1 x Rubio de Córdoba <sup>3</sup>												
36-1	28	-	14	-	-	14	10	-	-	-	-	-
36-3	28	1,56	13,16	0,04	-	13,20	12	0,60000	0,80000	P 0,99	0,70-0,50	Discriminación
36-6	28	1,33	13,33	-	-	13,33	13	-	-	-	-	-
36-9	28	2,92	12,48	0,04	-	12,52	11	0,56666	0,76000	0,70-0,50	0,80-0,70	Indiscriminación
36-11	28	1,92	13,04	-	-	13,04	12	0,52000	0,69333	0,20-0,10	0,30-0,20	Indiscriminación
36-13	28	-	14	-	-	14	10	-	-	-	-	-
36-14	28	1,20	13,40	-	-	13,40	13	-	-	-	-	-
36-16	28	-	14	-	-	14	10	-	-	-	-	-
46-2	28	-	14	-	-	14	10	-	-	-	-	-
ET1 x Solocastro <sup>3</sup>												
7-3	28	3,20	12,10	0,20	-	12,30	12	0,15000	0,20000	0,90-0,80	0,70-0,50	Discriminación
7-4	28	1,96	12,12	0,60	-	12,72	11	0,57333	0,86000	0,10-0,05	P 0,001	Discriminación
7-5	28	1,28	12,64	0,48	-	13,12	12	0,56000	0,74600	0,80-0,70	0,20-0,10	Discriminación
7-9	28	1,36	12,24	0,72	-	12,96	12	-	-	-	-	-
7-12	28	1,88	11,96	0,68	,04	12,68	12	0,34000	0,53300	0,95-0,90	0,30-0,20	Discriminación
7-13	28	1,36	12,48	0,56	-	13,04	13	-	-	-	-	-
7-14	28	1,32	12,20	0,76	-	12,96	12	-	-	-	-	-
7-15	29	1,32	12,88	0,64	-	13,52	13	-	-	-	-	-
7-17	29	5,16	11,12	0,48	,04	11,64	10	0,41000	0,65600	0,95-0,90	0,90-0,80	Discriminación
7-18	29	2,48	12,24	0,68	-	12,92	12	0,46000	0,61333	P 0,001	P 0,001	-
7-19	28	2,00	13,00	-	-	13,00	13	0,50000	0,06600	0,90-0,80	P 0,001	Discriminación
7-20	28	0,96	13,52	-	-	13,52	12	0,76000	1	0,90-0,80	-	Discriminación
7-21	28	2,32	12,84	-	-	12,84	12	0,42000	0,56000	0,90-0,80	0,90-0,30	Discriminación
ET2 x Alonso <sup>3</sup>												
47-4	28	-	14	-	-	14	10	-	-	-	-	-
ET2 x Alonso P. Juredo <sup>3</sup>												
48-2	28	0,14	13,88	-	-	13,88	13	-	-	-	-	-
ET2 x Fartó Rubio <sup>3</sup>												
49-3	28	-	14	-	-	14	25	-	-	-	-	-
ET2 x Las Palmas 7 <sup>3</sup>												
50-2	28	-	14	-	-	14	10	-	-	-	-	-
ET2 x Becío de Baza <sup>3</sup>												
51-2	28	0,48	13,76	-	-	13,76	13	-	-	-	-	-
ET2 x Rubio de Córdoba <sup>3</sup>												
52-1	28	-	14	-	-	14	10	-	-	-	-	-
ET2 x R. de Nigueruela <sup>3</sup>												
53-2	28	-	14	-	-	14	25	-	-	-	-	-

Tabla 21.- El tipo de apareamiento entre los genotipos B y B' en *T. timothei* Zhuk. x *T. ruficornis* L.<sup>3</sup>

- 1 planta con un número fijo de 10 bivalentes que mostró apareamiento discriminado.

Resumiendo, de las 14 plantas utilizables en la discusión sobre el apareamiento entre B y B', resultó que 8 tenían apareamiento discriminado, 3 indiscriminado y 3 indistinguible. De las 8 que resultaron tener apareamiento discriminado, 4 lo tuvieron sin lugar a dudas y las restantes con menor desviación en el  $\chi^2$  para discriminación que para indiscriminación.

1.2.2.4.- Apareamiento entre B y B' en la tercera generación de retrocruzamiento.- Las 23 plantas estudiadas correspondientes a la combinación citoplásmico-nuclear general Timopheevi x turgidum<sup>4</sup>, se registran en la Tabla 24.

El número fijo de bivalentes fue de 12, 13 y 14, y el número medio total de bivalente de 13,04 a 14. Al igual que en la generación anterior de retrocruzamiento los valores más bajos de apareamiento correspondieron a la combinación citoplásmico-nuclear ET1 x Solacambre<sup>4</sup>, ya que aún en tercer retrocruzamiento no hubo ninguna planta con 14 bivalentes por C.M.P.

Las poblaciones de C.M.P. analizadas fueron como en los casos anteriores de 10 y 25 para plantas con número fijo de bivalentes igual a 14 o menor, respectivamente.

Suprimidas las plantas de 13 y 14 bivalentes fijos se aplicaron los modelos matemáticos sobre el tipo de apareamiento entre B y B' en las 7 plantas restantes. Los valores de p estuvieron comprendidos entre 0,66000 y 0,86000 y los

de  $q$  de 0,69333 a 0,96000 existiendo 3 plantas con un valor de  $q$  superior a la unidad.

Se aplicó el modelo matemático de la Tabla 20 para las plantas con 12 bivalentes fijos, ya que no hubo con menos, - estimándose las probabilidades teóricas para los patrones de asociación en caso de discriminación e indiscriminación, y - a continuación se estimó el ajuste de los valores observados con los esperados en una y otra hipótesis mediante pruebas de  $\chi^2$ . Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- 8 plantas con 14 bivalentes en todas las MI estudiadas,
- 8 plantas con un número mínimo de 13 bivalentes en todas las MI estudiadas,
- 6 plantas con un número fijo de 12 bivalentes que mostraron apareamiento discriminado,
- 1 planta con un número fijo de 12 bivalentes que mostró apareamiento indiscriminado.

Por tanto, de las 7 plantas en las que se aplicaron los modelos matemáticos, resultaron 6 con apareamiento discriminado y 1 indiscriminado. De las 6 primeras, 3 dieron discriminación por resultar  $q$  mayor que 1, y las otras 3 por ser menor la desviación que para la hipótesis de indiscriminación.

1.2.2.5.- Apareamiento entre B y B' en la cuarta generación de retrocruzamiento.- Sólo se estudiaron 2 plantas correspondientes a la fórmula general Timopheevi x turgidum<sup>5</sup>, y ambas mostraron tener 14 bivalentes en todas las MI de las C.M.P. estudiadas, por lo que no sirven para discernir entre el apareamiento discriminado o indiscriminado.

FORMULA CITG- FASVA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	NUMERO CROMO- SOMICO	Nº medio de:		Nº medio total de II	Número de II	Nº de MI estudia- das	P =	q =	Discrimi- nación >P>	Indiscri- minación >P>	Resultado
E71 x Blanco de Corella <sup>4</sup>	39-1	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-
	39-2	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-
	39-3	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-
	39-4	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-
	39-5	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-
	39-6	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-
E71 x Enano de Jaén <sup>4</sup>	37-1	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-
	38-1	28	1,92	13,04	13,04	12	25	0,52000	0,69333	0,70-0,50	0,30-0,20	Discriminación
E71 x Solacambre <sup>4</sup>	38-2	28	0,80	13,52	13,56	12	25	0,78000	71	0,98-0,95	-	Discriminación
	38-3	28	1,28	13,28	13,32	12	25	0,66000	0,88000	0,50-0,30	0,95-0,90	Indiscriminación
	38-4	28	1,12	13,44	13,44	12	25	0,72000	0,96000	0,98-0,95	0,20-0,10	Discriminación
	38-5	28	0,56	13,72	13,72	12	25	0,86000	71	0,80-0,70	-	Discriminación
	38-6	28	0,72	13,64	13,64	13	25	-	-	-	-	-
	38-7	28	0,08	13,96	13,96	13	25	-	-	-	-	-
	38-8	28	1,36	13,32	13,32	12	25	0,66000	0,88000	0,70-0,50	0,10-0,05	Discriminación
	38-9	28	1,36	13,32	13,32	13	25	-	-	-	-	-
	38-10	28	0,64	13,68	13,68	12	25	0,84000	71	0,90-0,80	-	Discriminación
	38-11	28	0,40	13,80	13,80	13	25	-	-	-	-	-
	41-1	29	0,64	13,40	13,92	13	25	-	-	-	-	-
	41-2	29	0,30	13,30	13,58	13	10	-	-	-	-	-
	56-1	28	0,14	13,88	13,88	13	25	-	-	-	-	-
E712 x Alonso <sup>4</sup>	57-1	28	-	14	14	14	25	-	-	-	-	-
	58-1	28	-	14	14	14	25	-	-	-	-	-
	59-1	28	0,48	13,76	13,76	13	25	-	-	-	-	-
	63-1	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-
	64-1	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-
	64-1	28	-	14	14	14	10	-	-	-	-	-

Tabla 24.- El tipo de apareamiento entre B y E en T. Timopheevi Zhuk. x T. lurgidum L.<sup>4</sup>.

Como resumen, y si se agrupan las plantas por el comportamiento meiótico en MI respecto al apareamiento entre B y B', los resultados globales son los siguientes:

- 24 plantas no útiles por tener 14 bivalentes fijos,
- 24 plantas no útiles por tener 13 bivalentes fijos,
- 33 plantas con apareamiento entre B y B' discriminado
- 4 plantas con apareamiento entre B y B' indiscriminado,
- 5 plantas indistinguibles.

## 2.- MORFOLOGIA

El estudio de las características morfológicas de espiga realizado en todas las plantas de que se dispuso se encaminó a estimar el grado de conversión alcanzado hacia los genotipos cultivados en el proceso de los retrocruzamientos de sustitución.

Las 25 características estudiadas (23 cualitativas y 2 cuantitativa) en cada espiga, fueron indicadas en Material y Métodos (2.5) y la descripción particular para cada genotipo, de los doce utilizados como polinizadores reiterados, - se hizo igualmente en Material y Métodos (1.).

El estudio comparativo se hizo por lo tanto entre la - forma híbrida y las sucesivas generaciones de retrocruzamiento y el cultivar utilizado como polinizador, o sea, T. turgidum L. cult. durum o cult. turgidum, no haciendo la comparación con T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi por su menor participación.

Al igual que se hizo en la exposición de resultados sobre el apareamiento meiótico durante los retrocruzamientos - de sustitución, se indicarán separadamente los relativos a - caracteres morfológicos.

Los resultados de la observación de características - cualitativas se registran en las Tablas 25 a 36 y la distribución en dichas Tablas de izquierda a derecha se indica en las columnas tercera a veinticinco en el siguiente orden:

- tallo, forma del cuello
- espiga, posición en la madurez
- espiga, forma de la cara
- espiga, forma del perfil
- espiga, anchura relativa de la cara y perfil
- espiga, espiguillas
- aristas, presencia o ausencia
- aristas, color
- aristas, rugosidad
- aristas, caducidad
- glumas, color
- glumas, vellosidad
- glumas, anchura de la carena
- glumas, carena (marcada o no)
- glumas, amplitud de la carena
- glumas, hombro y seno
- glumas, nerviaduras
- glumas, tamaño del diente apical
- glumas, forma del diente apical
- glumas, curvatura del diente apical
- glumas, diente secundario



- lemma, longitud relativa gluma/lemma
- lemma, anchura relativa gluma/lemma

La expresión de los resultados viene dada en signos, indicándose con el signo + 1 carácter de la planta analizada coincidente con el del cultivar utilizado como polinizador; el signo - cuando no se da la coincidencia, y el signo  $\frac{1}{2}$  para caracteres intermedios.

Se han estudiado además dos caracteres cuantitativos, - la longitud del raquis y el número de espiguillas por espiga, lo que se ha llevado a cabo siempre en la espiga principal - de cada planta. De estas dos características se han obtenido la longitud media de los artejos (relación longitud del raquis/número de espiguillas) y la densidad (número de espiguillas/longitud del raquis). Los cuatro caracteres se registran en la Tabla 37, indicándose la media obtenida entre todas las plantas de cada combinación citoplásmico-nuclear.

2.1.- ET1 x Blanco de Corella<sup>n</sup>. - Se estudiaron dos generaciones de retrocruzamiento, segunda y tercera ( $n = 3$  y  $4$ ), con dos y cinco plantas respectivamente. Los resultados se registran en las Tablas 25 y 37.

En cuanto a los caracteres cualitativos, no se apreciaron diferencias notables de una generación a la siguiente, - siendo ya el producto del primer retrocruzamiento muy parecido al cultivar "Blanco de Corella" utilizado como polinizador.

Donde se apreció un acercamiento más lento al fenotipo de "Blanco de Corella" fue en los siguientes caracteres de espiga: posición en la madurez, y forma de la cara y perfil. Las aristas de las espigas fueron permanentes en las siete plantas analizadas, mientras que en el cultivar utilizado como polinizador recurrente son caducas.

En caracteres cuantitativos hubo un incremento de la longitud del raquis y del número de espiguillas, aunque del último en menor proporción como lo demostró la disminución de la densidad.

2.2.- ET1 x Enano de Jaén<sup>n</sup>. - Se analizaron cuatro plantas de segundo retrocruzamiento ( $n = 3$ ), tres de tercero ( $n = 4$ ) y cuatro de cuarto ( $n = 5$ ), y los resultados se registran en las Tablas 26 y 37.

En caracteres cualitativos las plantas de las tres generaciones estudiadas se mostraron muy parecidas, no apreciándose prácticamente nueva adquisición de caracteres pasada la segunda generación de retrocruzamiento.

La planta 63-3, que resultó tener 29 cromosomas, mostró un fenotipo alterado, como consecuencia del desequilibrio génico consecuencia a su vez del desequilibrio cromosómico.

En cuanto a caracteres cuantitativos, hay un incremento claro en la longitud media del raquis y número de espiguillas, bajando ligeramente la densidad.

2.3.- ET1 x Rubial de Liébana<sup>n</sup>. - Se estudiaron cuatro plantas correspondientes al híbrido y diez y una correspondientes a las dos primeras generaciones de retrocruzamiento ( $n = 2$  y  $3$ ). Los resultados se registran en las Tablas 27 y 37.

En caracteres cualitativos se observó un aumento del número de caracteres morfológicos coincidentes lo que derivó en un acercamiento rápido hacia el fenotipo del cultivar "Rubial de Liébana", conforme avanzaron los retrocruzamientos de sustitución. El color de las aristas cambió a amarillo.

En la longitud media del raquis y número de espiguillas también hubo un incremento notable, observándose que la espiga se hacía ligeramente más laxa al pasar de una generación a la siguiente.

2.4.- ET1 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup>. - Se estudió en el híbrido una planta, y en la tercera generación de retrocruzamiento ( $n = 3$ ) catorce plantas. Los resultados se registran en las Tablas 28 y 37.

Aunque la planta híbrida de que se dispuso mostró una gran cantidad de caracteres cualitativos del cultivar "Rubio de Córdoba" hubo una ligera ganancia de más caracteres en la tercera generación de retrocruzamiento. No obstante, el color de las aristas no llegó a manifestarse como negro, color propio del cultivar "Rubio de Córdoba".

Al igual que en las combinaciones citoplásmico-nucleares anteriores, hubo un aumento de la longitud media del raquis y, en menor proporción, del número de espiguillas.

2.5.- ET1 x Solacambre<sup>n</sup>. - Se estudiaron tres generaciones - avanzadas de retrocruzamiento (n = 3, 4 y 5), analizándose - dieciocho, doce y dos plantas para las tercera, cuarta y quinta generaciones respectivamente. Los resultados se registran en las Tablas 29 y 37.

En cuanto a los caracteres cualitativos, no se apreció evolución fenotípica de una generación a la siguiente. Al - igual que en la combinación citoplásmico-nuclear ET1 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup> las aristas manifestaron un color amarillo, distinto al negro, propio del cultivar "Solacambre".

En los caracteres cuantitativos, se repitieron los mismos hechos que en las combinaciones citoplásmico-nucleares - anteriores.

2.6.- ET82 x Alonso<sup>n</sup>. - Se ha estudiado el híbrido, primer retrocruzamiento (n = 2), segundo (n = 3) y tercero (n = 4), - con dos, cuatro, tres y dos plantas respectivamente. En las Tablas 30 y 37 se registran los resultados.

Apenas sí hay incremento de características cualitativas del cultivar "Alonso" de una generación a la siguiente, lo que se explica al partir de un híbrido que muestra más - del 70% de las características de dicho cultivar. Las aristas se mostraron amarillas en contraposición al color negro que era de esperar.

La longitud media de la espiga y el número de espiguillas por espiga, aumentó muy ligeramente del híbrido al tercer retrocruzamiento, aumentando la laxitud de la espiga.

2.7.- ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>n</sup>. - Se han estudiado las tres primeras generaciones de retrocruzamiento ( $n = 2, 3$  y  $4$ ), con dos, tres y una planta respectivamente. Los resultados vienen registrados en las Tablas 31 y 37.

Hay un ligero acercamiento hacia el fenotipo del cultivar "Alonso Pérez Jurado" en el transcurso de las tres generaciones, pero en líneas generales se puede considerar al producto del primer retrocruzamiento como muy parecido al cultivar polinizador.

Los caracteres cuantitativos mostraron el mismo comportamiento que en las anteriores combinaciones citoplásmico-nucleares.

2.8.- ET82 x Fartó Rubio<sup>n</sup>. - Se estudiaron plantas correspondientes al híbrido y segundo retrocruzamiento ( $n = 3$ ), analizándose tres plantas para cada generación. Los resultados - vienen registrados en las Tablas 32 y 37.

Se observaron más caracteres cualitativos de "Fartó Rubio" en las tres plantas del tercer retrocruzamiento que en las del híbrido. Como caracteres adquiridos de una generación a la siguiente se observó la forma del cuello que de recta - pasó a ondulada y el diente secundario que de obtuso pasó a agudo, aproximándose más al fenotipo de "Fartó Rubio".

En cuanto a los caracteres cuantitativos, se observó un aumento tanto en la longitud media del raquis como en el número de espiguillas, pero no aumentó la laxitud de la espiga que se mostró con una densidad estimablemente igual en el hí

brido y segunda generación de retrocruzamiento.

2.9.- ET82 x Las Palmas 7<sup>n</sup>. - Se analizaron los tres primeros retrocruzamientos, con ocho, una y dos plantas respectivamente. Los resultados se registran en las Tablas 33 y 37.

Los resultados observados demostraron que no hubo un progresivo incremento de características morfológicas cualitativas en los sucesivos retrocruzamientos de sustitución, conservándose caracteres de "Las Palmas 7" observados ya en el primer retrocruzamiento y no adquiriéndose prácticamente ninguno más.

Como características del cultivar "Las Palmas 7" que no aparecieron en ninguna de las plantas obtenidas de su genotipo sobre citoplasma ET82, podemos indicar la velloso de las glumas, que en dicho cultivar son lampiñas, apareciendo pubescentes y aún vellosas en todas las plantas ET82 x Las Palmas 7<sup>n</sup>, y las características del diente apical, que siendo muy corto, poco agudo y curvo en "Las Palmas 7", en las formas de este genotipo sobre citoplasma ET82 apareció de mediano a largo, agudo y de incurvado a recto.

Se observó un aumento de la longitud media de la espiga, y disminuyó la densidad de la misma.

2.10.- ET82 x Recio de Baza<sup>n</sup>. - Se han analizado los tres primeros retrocruzamientos ( $n = 2, 3$  y  $4$ ), estudiándose tres, dos y dos plantas respectivamente. Los resultados vienen registrados en las Tablas 34 y 37.

Hubo un incremento de caracteres cualitativos de "Recio de Baza" conforme avanzaron las generaciones de retrocruzamiento.

En cuanto a los caracteres cuantitativos estudiados, se observó un incremento de la longitud media de la espiga y número de espiguillas, aunque no se hicieron más laxas, al pasar del primer al tercer retrocruzamiento de sustitución.

2.11.- ET82 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup>.- Se analizaron seis plantas correspondientes al primer retrocruzamiento ( $n = 2$ ) y una al segundo ( $n = 3$ ). Los resultados figuran en las Tablas 35 y 37.

No se apreció ganancia de características morfológicas cualitativas de una generación a la siguiente. Una característica que difirió en las siete plantas de esta combinación citoplásmico-nuclear, respecto al fenotipo del polinizador - recurrente fue la forma del diente apical que para el material aquí estudiado fue recto mientras que en el cultivar - "Rubio de Córdoba" es curvo.

Hay un aumento considerable de la longitud media de la espiga y, en menor proporción, del número medio de espiguillas por espiga, como se deduce de la disminución de la densidad.

2.12.- ET82 x Rubión de Higuera<sup>n</sup>.- Se estudiaron una planta correspondiente al híbrido, una de primer retrocruzamiento ( $n = 2$ ) y dos de segundo ( $n = 3$ ). Los resultados se registran en las Tablas 36 y 37.

Se observó una ganancia en caracteres morfológicos cualitativos, del híbrido al primer retrocruzamiento, y ninguna diferencia de éste al segundo. Para los caracteres de aristas, color y rugosidad, se observaron los propios de "Rubi<sup>ón</sup> de Higueruela" de una a otra generación. Las aristas en las cuatro plantas analizadas fueron permanentes, frente al carácter caducas del cultivar utilizado como polinizador.

El comportamiento de los caracteres cuantitativos estudiados, fue el mismo que para la mayoría de los materiales - restantes, aumento de la longitud media de la espiga y número medio de espiguillas, y disminución de la densidad de la espiga.

Los resultados obtenidos en el análisis morfológico de las plantas durante las generaciones de retrocruzamiento, se pueden resumir en los siguientes puntos:

- para caracteres cualitativos, se observó una adquisición rápida de la mayoría de las características del cultivar utilizado como polinizador recurrente
- una vez adquiridas las características cualitativas, y a medida que continuó el proceso de sustitución nuclear, apenas se observó una adquisición de nuevos - caracteres
- para caracteres cuantitativos, se observó un aumento de la longitud de la espiga y del número de espiguillas
- las espigas tendieron a hacerse más laxas conforme - se conseguía la aloplasmia.



FORMULA	PLANTA	TALLO	ESPIGA		ARISTAS		GLUMAS					LEMMAS			
			Posi- ción	PER- CARA -P/L	PER- ANCH. REL. C/P	ESPI- GAS	BAR- COLOR SINAD	RUED- CADA SINAD	VELLO SINAD	COLOR SINAD	CAPITUL =	HOVED- SEMO NER. APICAL	DIENTE =	DIENTE 2 <sup>do</sup>	LOMB. DACH. REL. REL.
ET1 x Blanco de Corella <sup>3</sup>	18-1	1/2	1/2	-	+	+	+	+	+	+	1/2	1/2	+	+	+
	18-2		1/2	-	+	+	+	+	+	+	1/2	1/2	+	+	+
ET1 x Blanco de Corella <sup>4</sup>	39-1		-	1/2	+	+	+	+	+	+	1/2	1/2	+	+	+
	39-2	1/2	+	1/2	+	+	+	+	+	+	1/2	+	+	+	+
	39-3	1/2	+	1/2	+	+	+	+	+	+	1/2	+	+	+	+
	39-4	1/2	+	1/2	+	+	+	+	+	+	1/2	+	+	+	+
	39-6	1/2	+	1/2	+	+	+	+	+	+	1/2	+	+	+	+

Tabla 25.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET1 x Blanco de Corella<sup>n</sup> y Blanco de Corella.

FORMULA	CITOPLASMA - NÚCLEO	PLANTA	TALLO			ESPIGA			ARISTAS			GLUMAS					LEMMA	
			FORMA	POSICION	CARA	PER. FIL	ANCHO. REL. C/P.	ESPI. GUI. LAS	BAR. COLOR BAS	RUGO. COLOR SIABO	VELLO. COLOR SIABO	CAREM	MONDO SENO NERV. APLIC	DIENE	=	D. 2 <sup>o</sup> CRO	LONG. REL.	ANCHO REL.
ET1 x Enano de Jaén <sup>3</sup>		9-1	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+
		9-2	+	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+
		9-3	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+
		9-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+
ET1 x Enano de Jaén <sup>4</sup>		37-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		37-2	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+
		37-3	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+
ET1 x Enano de Jaén <sup>5</sup>		63-1	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+
		63-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+
		63-3	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+
		63-4	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+

Tabla 26.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET1 x Enano de Jaén<sup>n</sup> y Enano de Jaén.

FORMULA CITOPLASMA - NÚCLEO	PLANTA NÚMERO	TALLO	ESPIGA		ARISTAS		GLUMAS					LEMMA				
			FORMA CUELLO	POSICION CABA FIL	PER- FIL	ANCH. REL. 2/3	ESP. REL. 1/3	BAR- DAS	RUJO- SIN	COLO- SIN	VELLO- SIN		COLO- SIN	VELLO- SIN	DIEN- TE	DIEN- TE
ET1 x Rubial de Liebana	15-1		-	1/2	+	+	+	-	+	-	1/2	+	+	-	+	+
	15-2	1/2	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
	15-3		-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
	34-1	1/2	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
ET1 x Rubial de Liebana <sup>2</sup>	35-1		+	-	+	+	+	-	+	-	1/2	+	+	+	+	+
	35-2	-	+	-	+	+	+	-	+	-	1/2	+	+	+	+	+
	35-4	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
	35-5	-	+	-	+	+	+	-	+	-	1/2	+	+	+	+	+
	35-6	-	+	-	+	+	+	-	+	-	1/2	+	+	+	+	+
	35-8	-	+	-	+	+	+	-	+	-	1/2	+	+	+	+	+
	35-11		+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
	35-12	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
ET1 x Rubial de Liebana <sup>3</sup>	35-13		+	-	+	+	+	-	+	-	1/2	+	+	+	+	+
	35-14		+	-	+	+	+	-	+	-	1/2	+	+	+	+	+
	45-1	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabla 27.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET1 x Rubial de Liebana<sup>n</sup> y Rubial de Liebana.

CITOPLASMA - NUCLEO	NÚMERO	FORMA	POSICIÓN	PER-CARÁCTER	REL. P.	BASE-CARÁCTER	RUBRO-CARÁCTER	VELLO-DE-SIMIL-CARÁCTER	NÚMERO	DE-SIMIL-CARÁCTER	ALGUNOS	DE-SIMIL-CARÁCTER
ET1 x Rubio de Córdoba	5-1		+	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	-
ET1 x Rubio de Córdoba <sup>3</sup>	36-1		+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	-	+	+	+	+
	36-2	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	36-4	$\frac{1}{2}$	+	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	-
	36-5	$\frac{1}{2}$	+	-	-	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+
	36-6		+	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+
	36-8	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	36-9	$\frac{1}{2}$	+	-	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+
	36-10	$\frac{1}{2}$	+	-	-	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+
	36-11	-	+	-	-	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	-
	36-12	$\frac{1}{2}$	+	-	-	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+
	36-13	$\frac{1}{2}$	+	-	-	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+
	36-14	$\frac{1}{2}$	+	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	-
	36-16		+	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+
	46-1	+	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+

Tabla 28.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET1 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup> y Rubio de Córdoba,

FORMULA		PLANTA		ESTILO					ARISTAS		GLUMAS										LEMMAS								
CITOPLASMA- NÚCLEO		NÚMERO	FORMA CUELLO	POS- CUELLO	CARA	PER- FIL	ANIS- OTI. C./P.	ESPI- GU- LAS	BAR- DAS	COLO- SIDA	RUBO- SIDA	CHU- CUS	VELLO- SIDA	CARENA	HOMBRO SIDA	MON. SIDA	MENTE APICAL	BRAMA GLIO	LONG. ANCH. REL.										
ET1 x Solacambre <sup>3</sup>		7-4		+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	-	+	+					
		7-5	+		+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+				
		7-6		+		$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+			
		7-7	+	+		$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+			
		7-8	+	+	+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	-	+	+	+	+			
		7-9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+			
		7-10		+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+			
		7-11		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+		
		7-12	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+		
		7-13	+	+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+		
		7-14		+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	-	+	+	+	+	+		
		7-15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+		
		7-16	-	+	+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	$\frac{1}{2}$	-	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+		
		7-17	-	+	+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	$\frac{1}{2}$	-	+	+		
		7-18		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	-	-	+	+	+	+		
		7-19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+		
		7-20	+	+		$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	-	+	+	+	+	+	
		7-21		+	+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
		ET1 x Solacambre <sup>4</sup>		38-1	+	+		$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
				38-2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
				38-3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
38-4				+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
38-5	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
38-6				+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	+	+	-	+	+	+		
38-7	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
38-8	+			+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
38-9	+			+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	
38-10				+	+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
38-11	$\frac{1}{2}$			+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	+	+	-	+	+	+	
ET1 x Solacambre <sup>5</sup>		41-1	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
		41-2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	-	+	+		
ET1 x Solacambre <sup>5</sup>		64-1	+	+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+			
		64-2	+	+		$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	-	+	+		

Tabla 29.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET1 x Solacambre<sup>n</sup> y Solacambre.

MULA	PIANTA	A										ISTAS				GLUMAS				LEMMAS			
CITOPLASMA-NÚCLEO	NÚMERO	Forma ello	Posi- ción	Car- a	PER- FIL	AKA- REL	PER- FIL	AKA- REL	PER- FIL	AKA- REL	PER- FIL	AKA- REL	PER- FIL	AKA- REL	PER- FIL	AKA- REL	VELLO- CABIDA	Color S. P. D.	Color S. P. D.	Color S. P. D.	Color S. P. D.	Color S. P. D.	Color S. P. D.
ET82 x Alonso	1-1	$\frac{1}{2}$	+	$\frac{1}{2}$	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
	1-2	$\frac{1}{2}$	+	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
ET82 x Alonso <sup>2</sup>	2-2	-	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
	2-3	-	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
	2-5	-	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
	2-7	-	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
ET82 x Alonso <sup>3</sup>	47-1	+	+	$\frac{1}{2}$	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
	47-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
	47-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
ET82 x Alonso <sup>4</sup>	56-1	+	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+
	56-2	+	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+

Tabla 30.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET82 x Alonso<sup>n</sup> y Alonso.

FORMULA CITOPLASMA - NUCLEO	PLANTA NÚMERO	TALLO	ESPIGA			ARISTAS			G L U M A S					LEMA	
			Posi- ción	CAJA -FIL	PER- FIL	AM- PLA	ESPI- GAL	ESPI- GAL	BAZ- COLOR	RUSO- CLAV- SIDAD	VELLO- SIDAD	CARENA =	HOMO- SINO	DEBITE =	LONG. ARCU- REL. REL.
ET82 x Alonso P. Jurado <sup>2</sup>	10-1	1/2	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	10-2		+	-	1/2	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
ET82 x Alonso P. Jurado <sup>3</sup>	48-2	1/2	+	-	-	+	+	+	+	+	+	1/2	+	-	+
	48-3	1/2	-	+	+	+	+	+	-	+	+	1/2	+	+	+
	48-4	1/2	+	1/2	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
ET82 x Alonso P. Jurado <sup>4</sup>	57-1	+	-	+	1/2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabla 31.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET82 x Alonso Pérez Jurado y Alonso Pérez Jurado.

FORMULA	PLANTA NÚMERO	TALLO	ESPIGA		ARISTAS		G L U M A S						LEMMA			
			Posi- ción	PER- CARA FIL	PER- ANGU- REL. C/P.	ESPI- GU- LUM	BAR- DAS	COLOR SIDO	RUGO- CAN- CING	VELLO- C/DRO	CARENA =	HOMBRO SENO	PIENTE = MERU- APICAL	PIENTE = 2.º	LONG. ANCH. REL. REL.	
ET82 x Fartó Rubio	11-1	-	+	-	-	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	+	+
	11-2	-	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	-	-
	11-3	-	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	$\frac{1}{2}$	+	-	+	+	+	-	+	-
ET82 x Fartó Rubio <sup>3</sup>	49-1	+	+	+	+	+	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+
	49-2	$\frac{1}{2}$	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	+	+
	49-3	$\frac{1}{2}$	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	-	+	+

Tabla 32.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET82 x Fartó Rubio<sup>1</sup> y Fartó Rubio.



CITOPLASMA - NÚCLEO	NÚMERO	FORMA POS. CARA CUELLO CÓN	PER- FIL	ANCL. REL. C/P.	ESPI- GUI- LAS	BAR- BAS	COLOR SINAD	RUGO CA SINAD	COLOR SINAD	VELLO- SINAD	CARENA =	HOMOIO NERU. SENO	DIENTE APICAL	DIENTE 2 <sup>do</sup>	LONG. REL.	AUX. REL.
ET82 x Las Palmas 7 <sup>2</sup>	3-1	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	-	-	-
	3-2	-	+	$\frac{1}{2}$	+	+	-	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	-	+	+
	3-3	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+
	3-4	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	$\frac{1}{2}$	+	+
	3-6	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-
	3-7	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	3-8	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	-	+	+
	3-9	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
	50-2	$\frac{1}{2}$	-	+	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	-	+	-
ET82 x Las Palmas 7 <sup>4</sup>	58-1	$\frac{1}{2}$	+	-	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	-	+	+
	58-2	$\frac{1}{2}$	+	-	+	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	-	-	+	+

Tabla 33.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET82 x Las Palmas 7<sup>n</sup> y Las Palmas 7.

FORMULA CITOPLASMA - NUCLEO	PLANTA NÚMERO	TALLO	ESPIGA		ARISTAS		GLUMAS					LEMA						
			Posi- CION	CARA FIL	PER- FIL	ANCH. C/L	ESPI- C/L	BAR- QAS	COLOR SIDO	CARENA =	HOMERO =		DIENTE =	DIENTE =	2 <sup>MO</sup>	LONG. ANCU. REL.		
ET82 x Recio de Baza <sup>2</sup>	14-1	+	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	14-2	+	+	$\frac{1}{2}$	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	14-3	+	+	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ET82 x Recio de Baza <sup>3</sup>	51-1	$\frac{1}{2}$	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	51-2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ET82 x Recio de Baza <sup>4</sup>	59-1	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	59-2	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabla 34.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cualitativos entre ET 82 x Recio de Baza<sup>n</sup> y Recio de Baza.

FORMULA CITOPLASMA- NUCLEO	PLANTA NÚMERO	TALLO	ESPIGA		ARISTAS		GLUMAS					LEMMA	
		Forma cuello	Posi- ción	PER- CARA FIL	PER- ANUL. ESP- 3 <sup>da</sup> LAM.	BAR- RAS CULO SÍMB	BAR- RAS CULO SÍMB	VELLO CARENA	HOJAS SINO	DIENTE APICAL	DIENTE = 2 <sup>do</sup>	LONG. ANUL. REL. BEL.	
ET82 x Rubio de Córdoba <sup>2</sup>	6-1		-	-	$\frac{1}{2}$	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	-	+
	6-2		-	-	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	$\frac{1}{2}$	-	+	+
	6-4		-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	6-6		-	-	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	$\frac{1}{2}$	+
	44-2	-	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	-	+	+
	44-3		+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ET82 x Rubio de Córdoba <sup>3</sup>	52-1	-	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	-	+	+

Tabla 35.- Resultados de la comparación para caracteres morfológicos cualitativos entre ET82 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup> y Rubio de Córdoba.

FORMULA CITOPLASMA - NUCLEO	PLANTA NÚMERO	TALLO	ESPIGA			ARISTAS			GLUMAS					LEM.
			Posi- ción	Post- Cala Fil	Ant. Esp. Esp. Esp. Esp.	Bar- bas	Colo- r	Rug. Cabo- Cabo	VELLO- CABO CABO	VELLO- CABO CABO	HOMBO SEVO	BIENTE BIENTE	BIENTE BIENTE	
ET82 x R. de Higuera	31-1	-	+	$\frac{1}{2}$	+	+	-	-	+	+	$\frac{1}{2}$	+	-	+
ET82 x R. de Higuera <sup>2</sup>	42-1		+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+
ET82 x R. de Higuera <sup>3</sup>	53-1	-	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+
	53-2	-	+	$\frac{1}{2}$	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

Tabla 36.- Resultados de la comparación morfológica para caracteres cua-  
litativos entre ET 82 x R. de Higuera<sup>n</sup> y R. de Higuera.

ET1	x Blanco de Corella <sup>3</sup>	83,0	27,0	3,13	0,33	ET82	x Alonso P. Jurado <sup>2</sup>	58,5	17,0	3,65	0,29
ET1	x Blanco de Corella <sup>4</sup>	108,0	27,8	4,21	0,26	ET82	x Alonso P. Jurado <sup>3</sup>	86,6	21,0	4,55	0,24
ET1	x Enano de Jaén <sup>3</sup>	58,5	17,0	3,71	0,30	ET82	x Alonso P. Jurado <sup>4</sup>	73,0	17,0	4,56	0,23
ET1	x Enano de Jaén <sup>4</sup>	69,0	21,6	3,34	0,36	ET82	x Fartó Rubio	67,6	19,3	3,70	0,28
ET1	x Enano de Jaén <sup>5</sup>	82,2	23,7	3,74	0,29	ET82	x Fartó Rubio <sup>3</sup>	81,0	23,3	3,67	0,29
ET1	x Rubial de Liebana	80,7	21,2	3,96	0,24	ET82	x Las Palmas <sup>2</sup>	79,0	23,0	3,64	0,28
ET1	x Rubial de Liebana <sup>2</sup>	90,0	23,7	4,44	0,23	ET82	x Las Palmas <sup>3</sup>	96,0	25,0	4,00	0,26
ET1	x Rubial de Liebana <sup>3</sup>	134,0	29,0	4,78	0,21	ET82	x Las Palmas <sup>4</sup>	92,5	23,0	4,20	0,24
ET1	x Rubio de Córdoba	73,0	23,0	3,31	0,32	ET82	x Recio de Baza <sup>2</sup>	47,6	14,6	3,77	0,30
ET1	x Rubio de Córdoba <sup>3</sup>	78,8	20,5	3,91	0,26	ET82	x Recio de Baza <sup>3</sup>	77,0	20,0	4,02	0,26
ET1	x Solacambre	67,6	17,8	4,04	0,26	ET82	x Recio de Baza <sup>4</sup>	75,0	24,0	3,25	0,32
ET1	x Solacambre <sup>4</sup>	76,2	19,2	4,22	0,25	ET82	x Rubio de Córdoba <sup>2</sup>	70,4	17,4	4,31	0,24
ET1	x Solacambre <sup>5</sup>	90,0	21,0	4,50	0,23	ET82	x Rubio de Córdoba <sup>3</sup>	97,0	22,0	4,63	0,22
ET82	x Alonso	62,5	16,0	4,55	0,24	ET82	x Rubio de Higuieruel	57,0	19,0	3,16	0,33
ET82	x Alonso <sup>2</sup>	62,2	19,0	3,64	0,29	ET82	x Rubio de Higuieruela <sup>2</sup>	107,0	23,0	4,86	0,21
ET82	x Alonso <sup>3</sup>	99,6	21,3	4,97	0,21	ET82	x Rubio de Higuieruela <sup>3</sup>	101,5	20,0	5,36	0,19
ET82	x Alonso <sup>4</sup>	63,0	13,0	5,26	0,20						

Tabla 37.- Resultados morfológicos cuantitativos en las 12 formas aloplásmicas obtenidas. Los valores que figura son valores medios y los correspondientes a longitudes están tomados en milímetros.

### 3.- FERTILIDAD

Uno de los efectos más interesantes de la sustitución nuclear interespecífica desde el punto de vista de su utilización en la obtención de semilla híbrida, es la obtención de formas androestériles.

Dada la diversidad del material genético utilizado, entendiendo por material genético no únicamente el contenido en el núcleo sino también los factores citoplásmicos por su importancia en la manifestación de la androesterilidad, era de esperar que al introducir el núcleo de una colección de variedades cultivadas españolas de turgidum a dos citoplasmas de Timopheevi, apareciesen algunas combinaciones androestériles.

Los dos estudios sobre fertilidad realizados nos permiten conocer el efecto del citoplasma sobre los núcleos de los trigos duros españoles. En efecto, se han estudiado la fertilidad masculina ( ♂ ) mediante la estimación de la viabilidad del polen y la floral ( ♀ ) al estudiar el tanto por ciento de semilla cuajada en polinización libre.

#### 3.1.- Fertilidad del polen

En la Tabla 38 se registran los porcentajes de fertilidad del polen en las 84 plantas pertenecientes a las doce combinaciones citoplásmico-nucleares utilizadas. Las plantas que no tienen este dato no se estudiaron, fundamentalmente por su pobre ahijamiento y la preferencia que otorgamos a -



Fot. 16.- Aloplasmia ET82 x Alonso<sup>n</sup>; las aristas se manifiestan amarillas en lugar de negras.



Fot. 17.- Aloplasmia ET1 x Rubial de Liébana<sup>n</sup>; aumento de la longitud del raquis y número de espiguillas; cambio de la inclinación de la espiga en la madurez; cambio en el color de las aristas.

los estudios de la meiosis de las C.M.P.

Dado que el efecto androesterilizante está condicionado por la interacción citoplasma-núcleo y dado que se han utilizado dos citoplasmas diferentes de T. Timopheevi Zhuk., se indican los resultados obtenidos independientemente sobre cada citoplasma.

3.1.1.- Citoplasma ET1.— De los cinco genotipos nucleares introducidos en este citoplasma, cuatro mostraron un comportamiento gametofítico masculino normal, y uno androestéril, de la siguiente manera:

ET1 x Blanco de Corella<sup>n</sup>: AE

ET1 x Enano de Jaén<sup>n</sup>: AF

ET1 x Rubial de Liébana<sup>n</sup>: AF

ET1 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup>: AF

ET1 x Solacambre<sup>n</sup>: AF

Los resultados obtenidos dentro de las cuatro formas androfértiles, indican que para cada fórmula citoplásmico-nuclear, y dentro de ella, para cada generación, los resultados varían dentro de ciertos límites más o menos amplios. - Así, en ET1 x Enano de Jaén<sup>n</sup> todos los porcentajes de fertilidad oscilaron entre el 70 y el 90% en las tres generaciones de retrocruzamiento analizadas, mientras que en ET1 x Solacambre<sup>n</sup> únicamente en la tercera generación los valores oscilan entre el 0 y el 100% de fertilidad.



La androesterilidad manifestada en ET1 x Blanco de Corella<sup>n</sup> fue total en todas las plantas de tercera y cuarta generación analizadas.

3.1.2.- Citoplasma ET82. - De los siete genotipos nucleares introducidos en el citoplasma ET82, seis dieron fertilidad polínica y uno, únicamente, androesterilidad, de la siguiente manera:

ET82 x Alonso<sup>n</sup>: AF  
ET82 x Fartó Rubio<sup>n</sup>: AF  
ET82 x Las Palmas 7<sup>n</sup>: AF  
ET82 x Recio de Baza<sup>n</sup>: AF  
ET82 x Rubión de Higuera<sup>n</sup>: AF  
ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>n</sup>: AE  
ET82 x Rubio de Córdoba<sup>n</sup>: AF

Al igual que sobre el citoplasma ET1, los trigos tetraploides cuyo núcleo se introdujo en el citoplasma ET82, mostraron una gama de porcentajes más o menos amplia en las combinaciones fértiles. Así, en ET82 x Alonso<sup>n</sup> los valores oscilaron entre el 12 y el 90%, mientras que en ET82 x Recio de Baza<sup>n</sup> los porcentajes de fertilidad fueron muy similares, entre el 80 y el 100%.

La combinación ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>n</sup>, fue totalmente androestéril, aunque hubo una planta de primer retrocruzamiento (10-2) que mostró un 13% de fertilidad del polen.

### 3.2.- Fertilidad floral

Los resultados se registran también en la Tabla 38 y en general se puede adelantar que concuerdan con los relativos a fertilidad del polen, aunque no dependen exclusivamente de ella ya que como se ha dicho se mide por el éxito en la fecundación, y la polinización fue libre. No se proporcionaron polinizadores, y la fecundación alógama ocasional tuvo lugar con polen que procedía de otras plantas de igual o distinta combinación citoplásmico-nuclear, únicamente por vecindad.

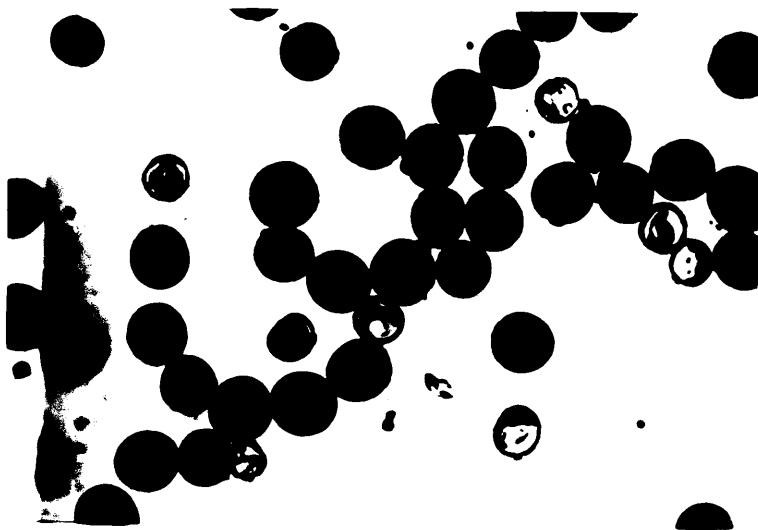
Al igual que para la fertilidad del polen, se indican se paradamente los resultados sobre citoplasma ET1 y ET82.

3.2.1.- Citoplasma ET1.- Los resultados en ET1 x Blanco de Correla<sup>n</sup>, concordaron con la condición androestéril, dando 0% de fertilidad floral, como consecuencia del fallo en primer lugar de la autofecundación y en segundo lugar al no haber - polinización cruzada.

El resto de las combinaciones citoplásmico-nucleares mostró una amplia gama de porcentajes de fertilidad, destacándo se los valores altos observados en la tercera generación de - retrocruzamiento de sustitución del material ET1 x Rubio de - Córdoba<sup>n</sup>, que fue del 60 al 120%.

3.2.2.- Citoplasma ET82.- Al igual que en el citoplasma anterior, únicamente la combinación ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>n</sup> mostró esterilidad floral del fallo en la autofecundación y en la polinización cruzada.





Fot. 18.- Polen perteneciente a una planta parcialmente fértil.

El resto de los materiales mostraron porcentajes de fertilidad floral muy variables dentro de cada generación de retrocrüzamiento.

#### 4.- HISTOGENESIS DE LAS ANTERAS

El estudio comparativo, llevado a cabo para investigar la relación causa-efecto de la androesterilidad a nivel cito-histológico, se ha hecho entre plantas de la siguiente fórmula citoplásmico-nuclear y comportamiento del gametofito masculino:

- Alonso Pérez Jurado; androfértil
- ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>4</sup>; androestéril.

En el capítulo correspondiente de Material y Métodos, se indicaron las técnicas para estimación de los siete estados del desarrollo de las anteras utilizado, obtención de preparaciones y mediciones tomadas. A continuación se exponen por separado, los resultados obtenidos en el material androfértil y androestéril.

4.1.- Material androfértil. - La formación del gametofito masculino en plantas del genotipo Alonso Pérez Jurado, que es usada como testigo para compararla con la de material androestéril, dio los resultados que se registran en la Tabla 39 y que se representan en los Gráficos 1 al 5.

Las células del tapete se desarrollan a partir de la capa parietal primaria que envuelve a la capa esporógena, sien

do la más interna de las cuatro que desde un principio envuelven al saco polínico, la capa media se reabsorbe al principio de la meiosis, durante la primera profase de las C.M.P., y quedan sólo tapete, endotecio y epidermis. Las células del tapete son mononucleadas en premeiosis y binucleadas cuando se ha iniciado la profase de las C.M.P.

Las dimensiones celulares según puede verse en la Tabla 38 y sobre todo en el Gráfico 3, correspondiente a la relación anchura/longitud, fueron muy parecidas, siendo por tanto las células casi cuadradas en su observación transversal y mostrando poca variación a lo largo del desarrollo. Unicamente al final de éste, parece que hubo un alargamiento tangencial de las células del tapete, tomando un aspecto rectangular. Hacia el estado de polen carente de exina (Polen I) de las células esporógenas, las dimensiones medias de las células del tapete fueron  $17,08 \pm 3,72 \times 10,80 \pm 1,60$  (longitud x anchura, respectivamente). Finalmente, la capa tapetal degeneró quedando reducida a una fina película adosada al endotecio hacia el tiempo en que estaba a punto de sobrevenir la dehiscencia.

Los núcleos del tapete mostraron una ligera disminución de tamaño a lo largo del desarrollo de las anteras, de  $9,63 \pm 1,24$  y  $8,39 \pm 0,73$  (diámetros longitudinal y radial respectivamente) en premeiosis, bajó a  $7,37 \pm 2,48$  y  $6,86 \pm 0,60$  en Polen II, tras la formación de la intina, exina y poro germinal de los granos de polen. Hacia el final del desarrollo terminan por desaparecer.

4.2.- Material androestéril.— Los resultados se registran en la Tabla 40 y se representan en los Gráficos 1 al 5 junto a

	PREMEIOSIS	PROFASE I	MI - DIAD.	TETRADAS	POLEN I	POLEN II	POLEN III
L.	12,26 $\pm$ 5,84	12,33 $\pm$ 2,68	12,77 $\pm$ 3,67	13,14 $\pm$ 2,92	17,08 $\pm$ 2,92	14,38 $\pm$ 3,94	-
A.	10,22 $\pm$ 1,02	13,43 $\pm$ 1,02	11,53 $\pm$ 1,02	13,43 $\pm$ 0,46	10,80 $\pm$ 1,60	11,82 $\pm$ 0,87	-
A <sub>L</sub>	0,8325	1,0882	0,9028	1,0220	0,6323	0,8219	-
D.	9,63 $\pm$ 1,24	7,95 $\pm$ 0,73	7,00 $\pm$ 2,48	7,51 $\pm$ 1,02	7,66 $\pm$ 0,60	7,37 $\pm$ 2,48	-
d.	8,39 $\pm$ 0,73	8,24 $\pm$ 0,39	7,08 $\pm$ 0,73	7,51 $\pm$ 0,22	6,35 $\pm$ 1,02	6,86 $\pm$ 0,60	-

L = Longitud

A = Anchura

D = Diámetro tangencial-nuclear

d = Diámetro radial

Tabla 39.- Dimensiones medias (en  $\mu$ ) de las células del tapete de las anteras durante 7 estados de su desarrollo, en Alonso Pérez Jurado.

	PREMEIOSIS	PROFASE I	MI - DIAD.	TETRADAS	POLEN I	POLEN II	POLEN III
L.	12,55 $\pm$ 3,72	16,71 $\pm$ 2,04	16,42 $\pm$ 1,46	20,65 $\pm$ 2,68	19,71 $\pm$ 2,26	17,75 $\pm$ 2,92	19,85 $\pm$ 4
A.	8,03 $\pm$ 1,02	9,56 $\pm$ 1,02	9,78 $\pm$ 1,46	7,59 $\pm$ 0,73	10,00 $\pm$ 0,73	10,58 $\pm$ 1,02	8,68 $\pm$ 3
A <sub>L</sub>	0,6398	0,5721	0,5956	0,3675	0,5073	0,6169	0,4371
D.	9,27 $\pm$ 1,24	6,93 $\pm$ 1,02	6,78 $\pm$ 0,73	7,81 $\pm$ 1,24	8,10 $\pm$ 1,46	7,44 $\pm$ 1,02	8,97 $\pm$ 1
d.	6,78 $\pm$ 0,73	7,22 $\pm$ 0,46	6,93 $\pm$ 1,02	6,13 $\pm$ 0,39	6,71 $\pm$ 1,02	7,44 $\pm$ 0,60	5,47 $\pm$ 1

L = Longitud

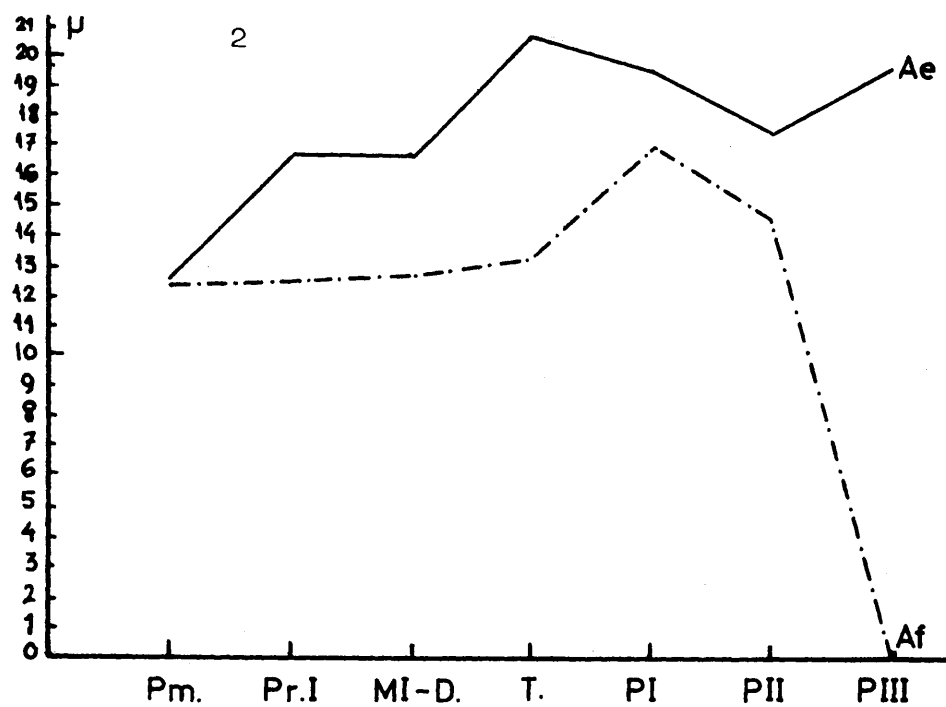
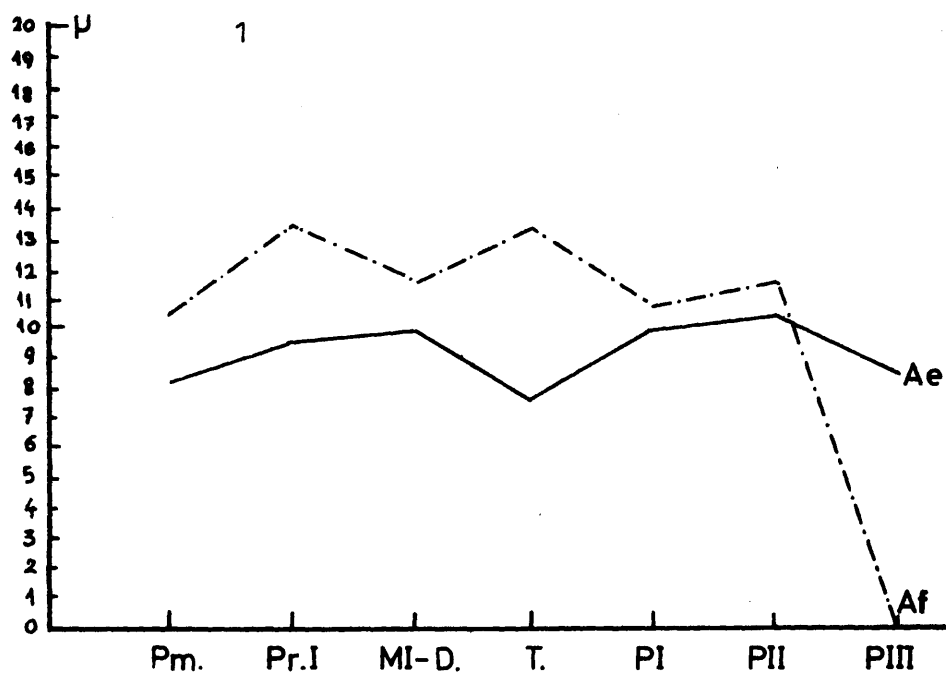
A = Anchura

D = Diámetro tangencial-nuclear

d = Diámetro radial

Tabla 40.- Dimensiones medias (en  $\mu$ ) de las células del tapete de las anteras durante 7 estados de su desarrollo, en ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>4</sup>.





Gráficos 1 y 2.- Cambios de las dimensiones celulares, anchura (1) y longitud (2), durante el desarrollo de las anteras (Ae=androestéril; Af=fértil).

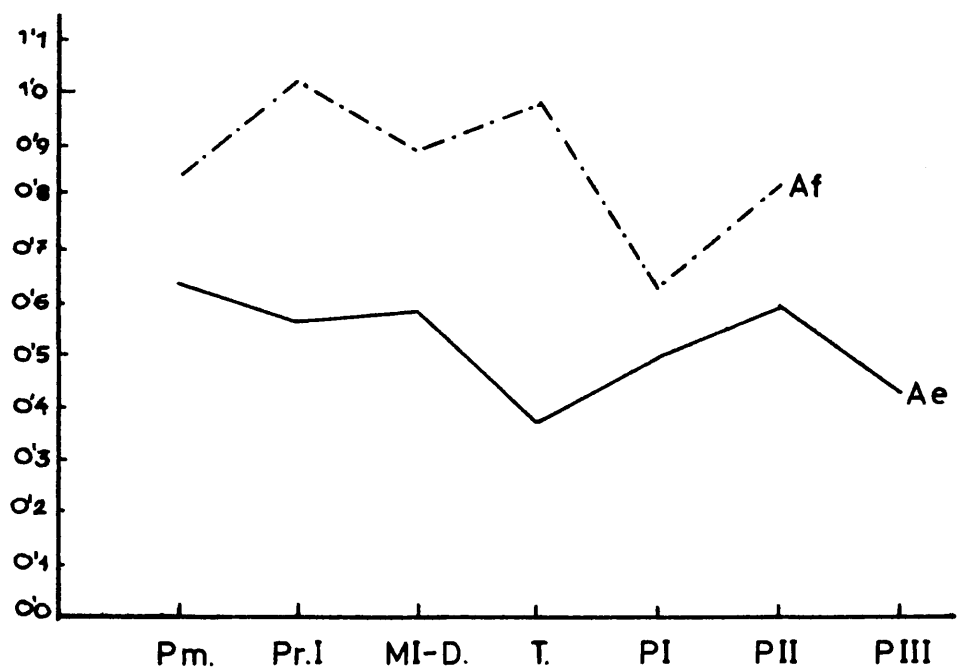
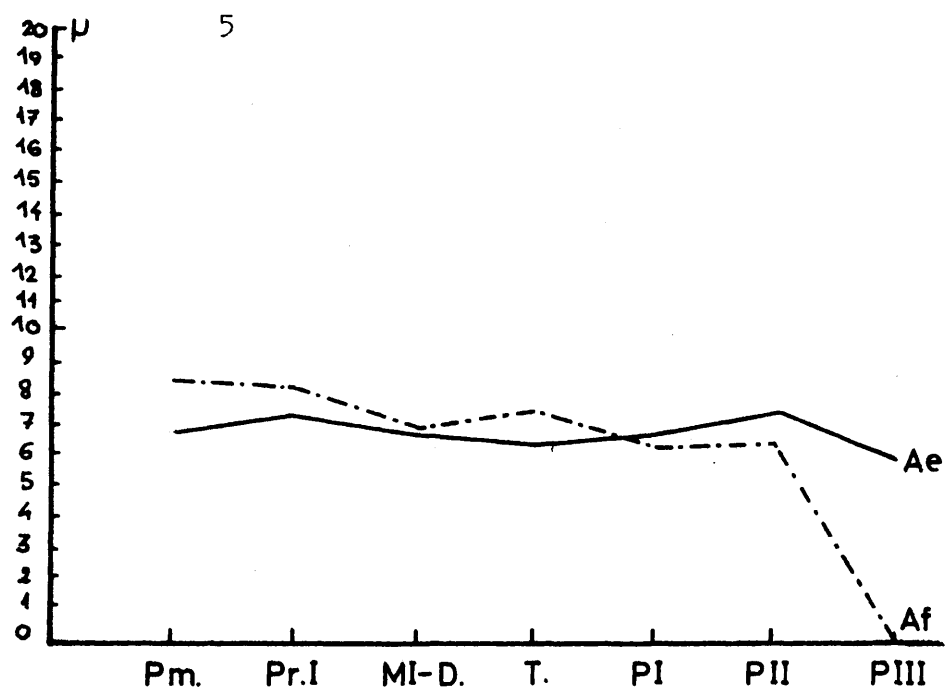
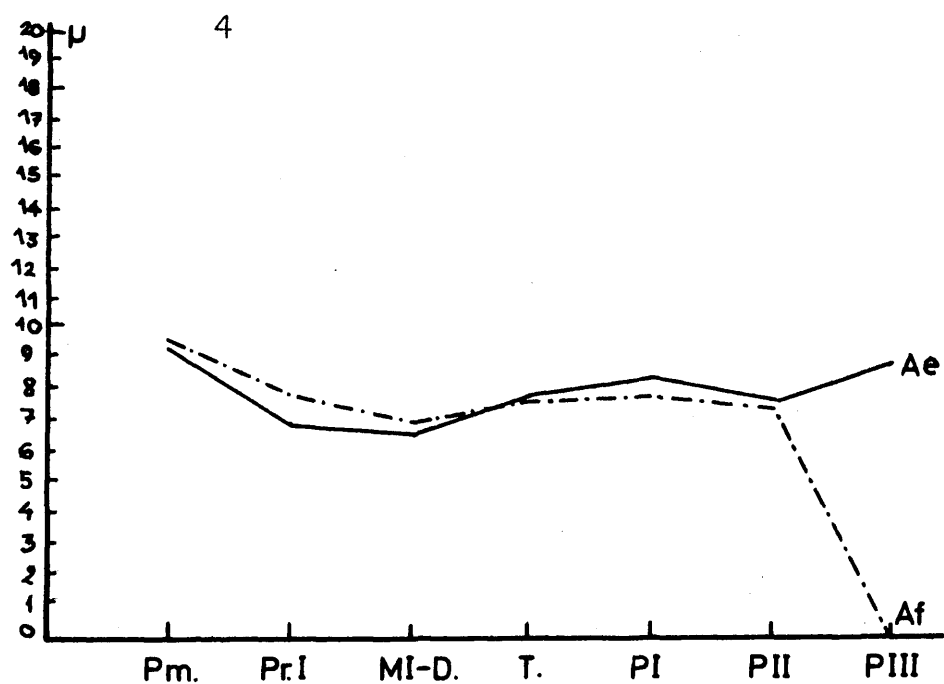


Gráfico 3.- Cambio de la relación anchura/longitud,  
durante el desarrollo de las anteras.

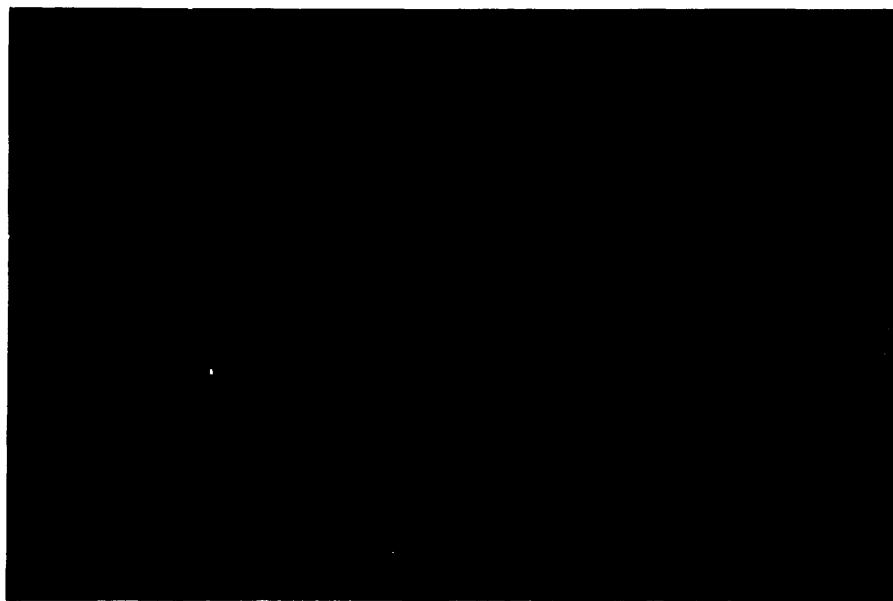


Gráficos 4 y 5.- Cambios de los diámetros tangencial (4) y radial nucleares, durante el desarrollo de las anteras.



• JAN • 73

Fot. 19.- Corte histológico de una flor de la línea androestéril durante la maduración del polen - (Polen II).



• JAN • 73

Fot. 20.- Corte histológico de una flor de la línea androfértil durante la maduración del polen - (Polen II).



• JAN • 73

Fot. 21.- Corte histológico de una antera de la línea androestéril durante el estado de premeiosis de las C.M.P.



• JAN • 73

Fot. 22.- Corte histológico de una antera de la línea androfértil durante el estado de premeiosis de las C.M.P.



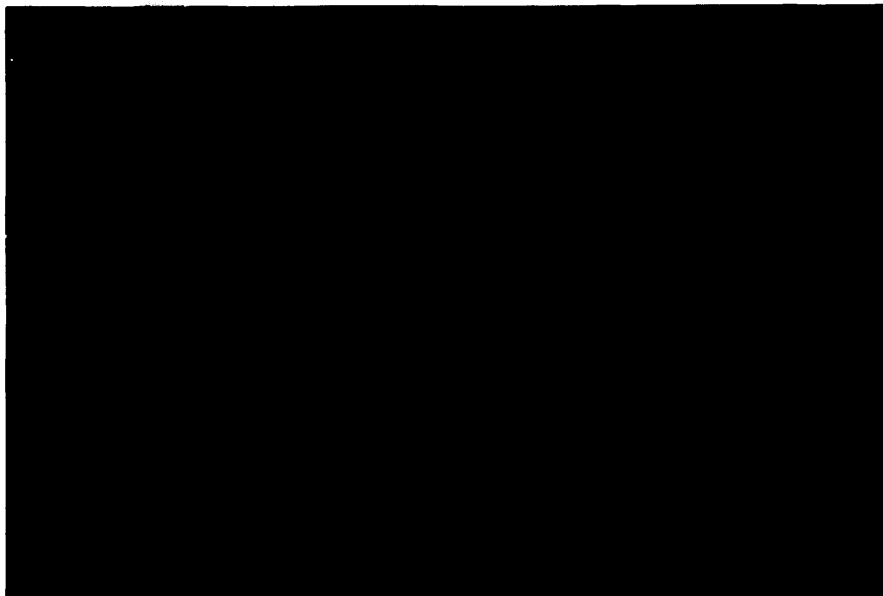
• JAN • 73

Fot. 23.- Corte histológico de una antera de la línea androestéril durante el estado de profase temprana de las C.M.P.



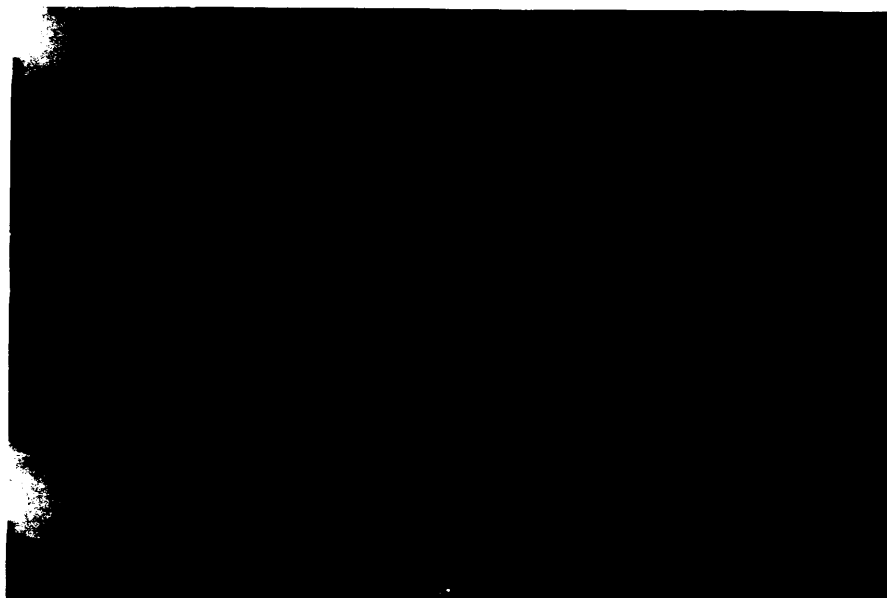
• JAN • 73

Fot. 24.- Corte histológico de una antera de la línea androfértil durante el estado de profase temprana de las C.M.P.



• JAN • 73

Fot. 25.- Corte histológico de una antera de la línea androestéril durante el estado de primera metafase de las C.M.P.



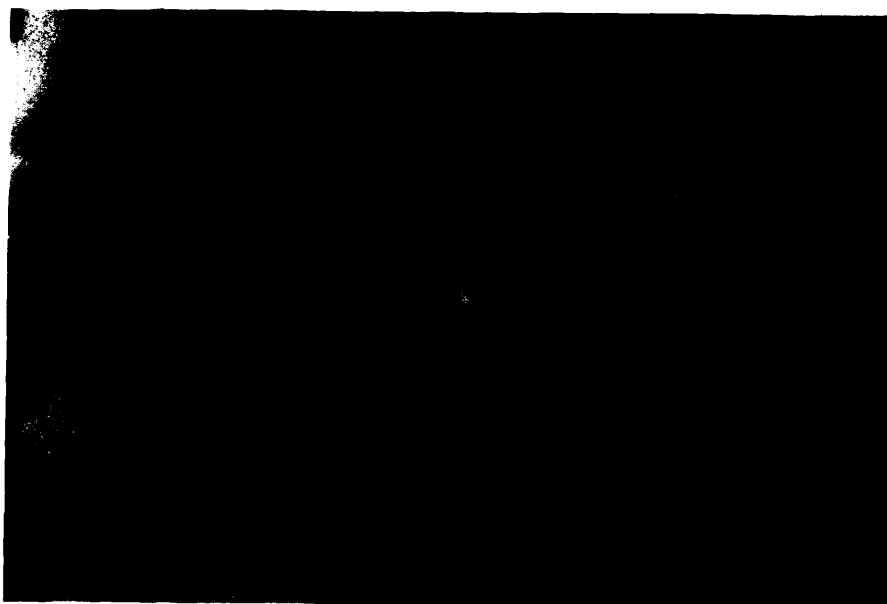
• JAN • 73

Fot. 26.- Corte histológico de una antera de la línea androfértil durante el estado de formación de diadas de las C.M.P.



• JAN • 73

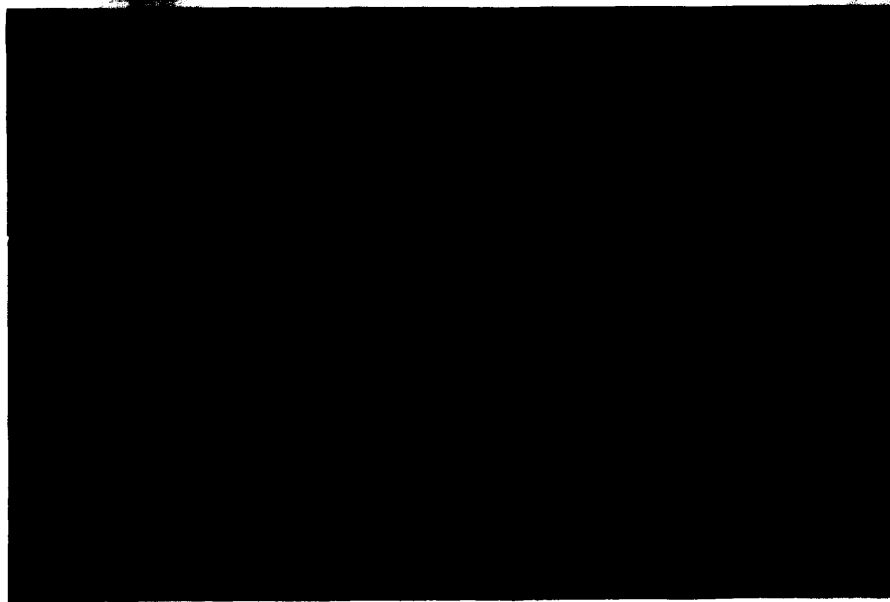
Fot. 27.- Corte histológico de una antera de la línea androfértil durante el estado de aislamiento de los granos de polen (carentes aún de exina y poro germinal).



• JAN • 73

Fot. 28.- Corte histológico de una antera de la línea androfértil durante el estado de tetradas de las C.M.P.





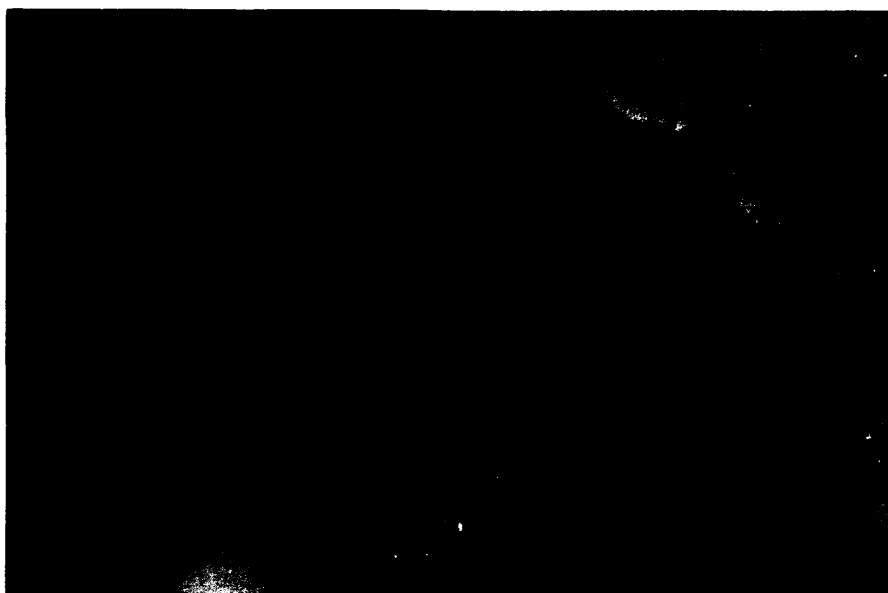
• JAN • 73

Fot. 29.- Corte histológico de una antera de la línea androestéril durante la maduración del polen (Pollen I).



• JAN • 73

Fot. 30.- Corte histológico de una antera de la línea androfértil durante la maduración del polen (Pollen I).



• JAN • 73

Fot. 31.- Corte histológico de una antera de la línea androestéril en el tercer estadio de maduración - del polen (Polen III). Obsérvese la apariencia normal del polen, provisto de una gruesa intina, una fina exina y porogerminal, así como la persistencia de las células binucleadas tapetales.

los correspondientes a la línea utilizada como testigo.

La histogénesis del tapete es en principio igual a la de las formas fértiles con excepción de su no degeneración final y como consecuencia, la no dehiscencia y androesterilidad. - Las células del tapete tienen forma rectangular, alargadas tangencialmente, acentuándose esta condición hacia el centro del desarrollo de las anteras, con un valor de la relación anchura/longitud de 0,3675. Al final del desarrollo hay también un alargamiento tangencial que coincide con el momento de la degeneración del tapete en la línea androfértil, fenómeno que aquí no sucede.

Los núcleos mantuvieron constantes sus dimensiones, si bien el diámetro radial creció incluso al final del desarrollo de las anteras, pasando de  $6,78 \pm 0,73$  en premeiosis, a  $7,44 \pm 0,60$  hacia el final del desarrollo.

No se produjo dehiscencia en la línea androestéril, quedando las anteras deformadas y amarilleando en el interior de la flor. Los granos de polen maduros se mostraron irregulares en forma y tamaño, careciendo de citoplasma, como se demostró por la ausencia de tinción con carmín acético.

#### 5.- CONTENIDO PROTEINICO DE LAS ANTERAS

Se utilizó el mismo material que el empleado en el estudio histológico del desarrollo de las anteras.

En el capítulo 7 de Material y Métodos, se describió el criterio seguido en la estimación de los dos estados de desa

rrullo de las anteras tomadas. A continuación se exponen por separado los resultados obtenidos en los materiales androfértil y androestéril.

5.1.- Material androfértil.- Los resultados se registran en la Figura 1 y Gráfico 6, correspondientes a los esquemas de patrones de proteínas y sus correspondientes valores de  $R_f$  - (relación recorrido banda/recorrido frente), en las cinco repeticiones llevadas a cabo con anteras tomadas en el momento en que la meiosis había terminado pero aún no asomaban al exterior las aristas de la espiga.

En la Figura 3 y Gráfico 8 se registran los resultados correspondientes a las observaciones realizadas en anteras - tomadas después del espigado.

Como puede observarse, en el primer momento de la toma de muestras los resultados no son reproducibles y los patrones de bandas que salieron fueron diferentes en cada una de las pruebas llevadas a cabo.

Lo mismo sucedió cuando se trataron de reproducir las - observaciones llevadas a cabo en el material recogido tras - el espigado.

5.2.- Material androestéril.- Los resultados se registran en la Figura 2 y Gráfico 7, correspondientes a esquemas de cada electroforesis y valores de  $R_f$  en las cinco repeticiones del material tomado inmediatamente terminada la meiosis.

En la Figura 4 y Gráfico 9, se representan los resulta-

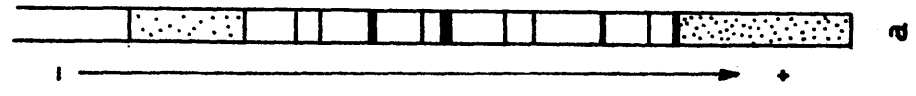
dos relativos a las observaciones realizadas después del es  
pigado.

Los resultados, en cuanto a su reproducibilidad, son -  
tan negativos como para el material fértil, a excepción de  
los correspondientes a anteras tomadas tras el espigado (Grá  
fico 9).

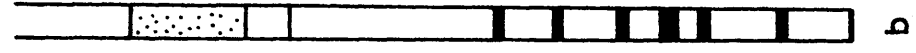
Dada la heterogeneidad mostrada en la presencia de pro-  
teínas intralíneas, y cuyas razones se exponen en la Discu-  
sión, no podemos estimar diferencias entre líneas.

AF

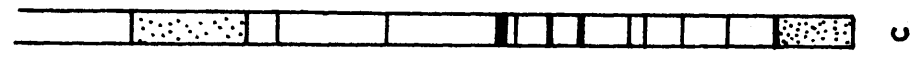
AE



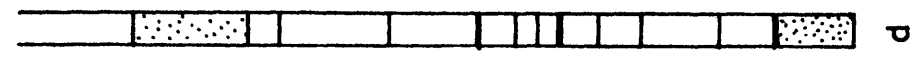
a



b



c

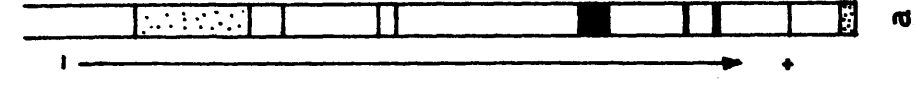


d

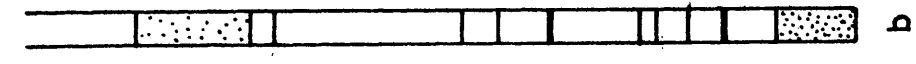


e

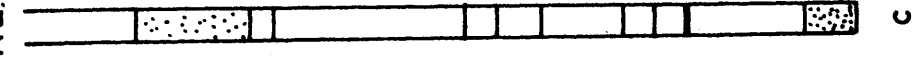
Fig. 1



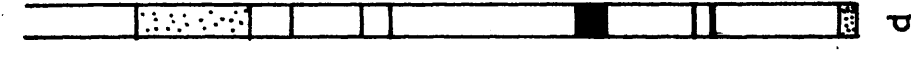
a



b



c



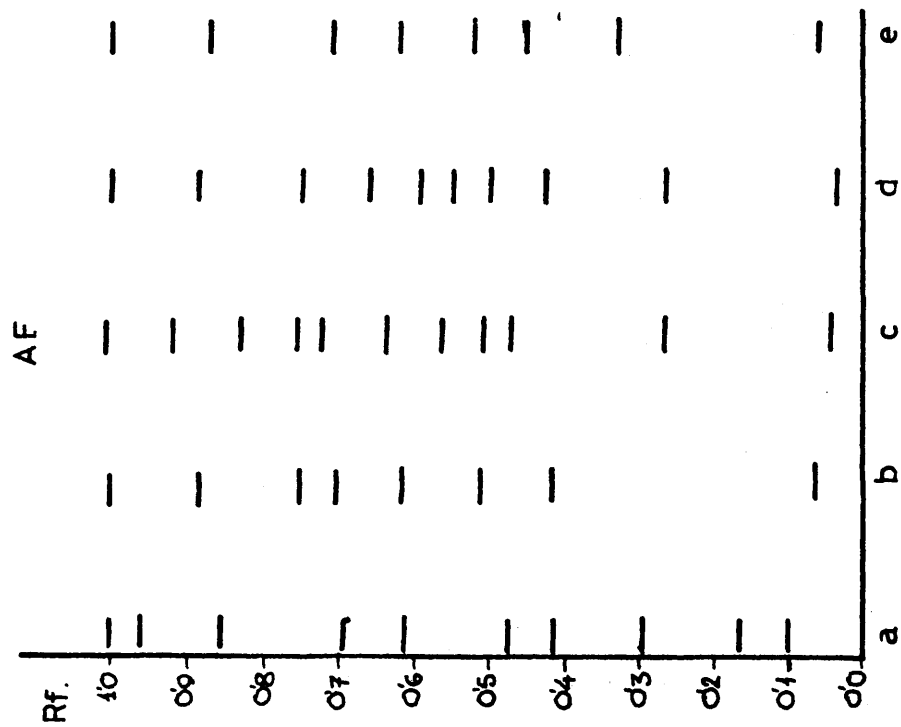
d



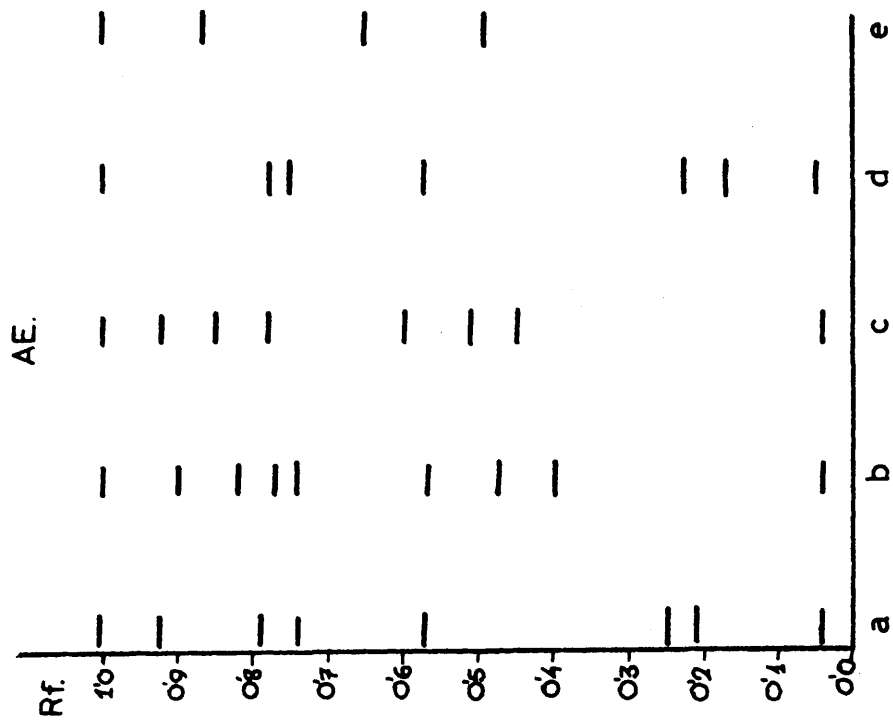
e

Fig. 2

Figuras 1 y 2.- Representación esquemática de los patrones electroforéticos aparecidos en cada una de las repeticiones (a - e) para muestras tomadas entre meiosis y espigado.



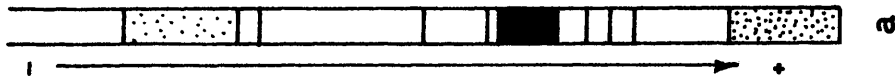
Gráf. 6



Gráf. 7

Gráficos 6 y 7.- Representación gráfica de los valores de las movilidades proteínicas (RF), observados en cada una de las repeticiones (a - e) para muestras tomadas entre meiosis y espigado.

AF



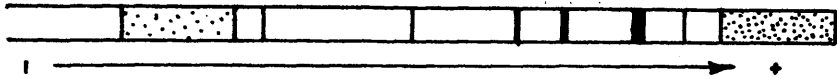
a



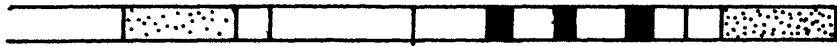
b

Fig. 3

AE



a

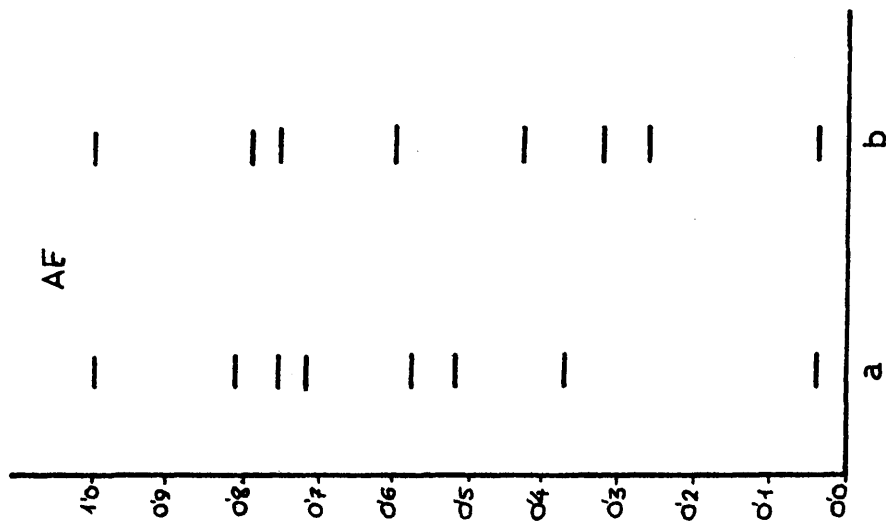


b

Fig. 4

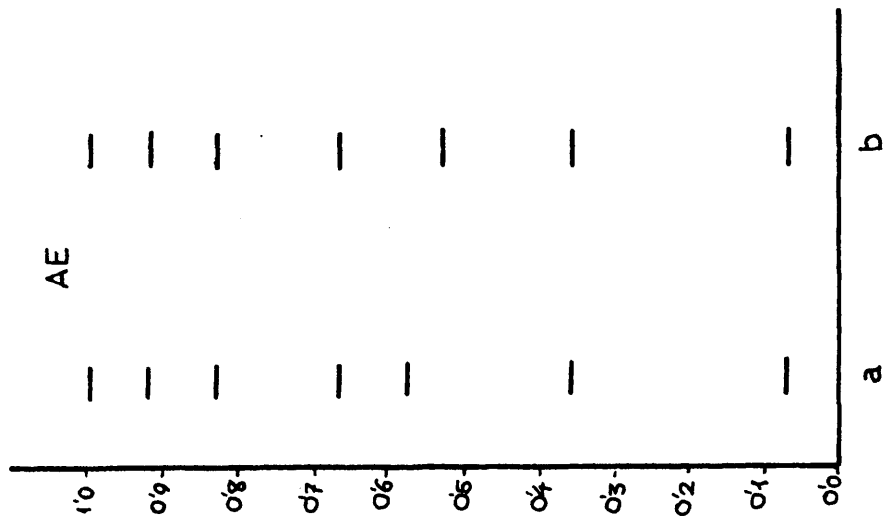
Figuras 3 y 4.- Representación esquemática de los patrones electroforéticos aparecidos en cada una de las repeticiones (a y b), - para las muestras tonadas durante el espigado.





Gráf. 8

Gráficos 8 y 9.- Representación gráfica de los valores de las movilidades proteínicas (Rf) observadas en cada una de las repeticiones (a y b), para las muestras tomadas durante el espigado.



Gráf. 9

#### IV.- D I S C U S I O N

##### 1.- CITOLOGIA

Los estudios sobre el número de cromosomas de cada planta y apareamiento meiótico durante el proceso de sustitución cromosómica, así como los de morfología, nos ponen de manifiesto la conversión de las plantas hacia el parental recurrente.

Para la discusión de las observaciones citogenéticas, y a fin de no alargar excesivamente la exposición, se darán las explicaciones relativas al comportamiento general del material a través de las generaciones de retrocruzamiento, agrupando - las combinaciones citoplásmico-nucleares por generaciones. Para dar este tratamiento se consideró como condición necesaria un comportamiento citogenético homogéneo, tanto entre plantas de una misma combinación citoplásmico-nuclear como entre combinaciones de la misma generación, y para comprobarlo se hicieron pruebas de homogeneidad basadas en los patrones de asociación observados en MI. Se excluyeron en estas pruebas las combinaciones en las que sólo se había estudiado una planta. La homogeneidad quedó estadísticamente demostrada, como lo - prueban los valores de P realmente altos. Estas pruebas se registran en la Tabla 41.

##### 1.1.- Recuento cromosómico

El resultado de la agrupación de datos de las plantas - con el mismo número de cromosomas pertenecientes a cada generación de retrocruzamiento, se registra en la Tabla 42.

FORMULA CITO - PLASMA-NUCLEO	HOMOGENEIDAD intra-combinación		HOMOGENEIDAD inter-combinaciones		SE DEMUESTRA
	$\chi^2 =$	$> P >$	$\chi^2 =$	$> P >$	
ET1 x Rubial de Liebana	0,415	$> 0,99$			
ET82 x Alonso	0,431	$> 0,99$			
ET82 x Fartó Rubio	2,382	$> 0,99$	0,775	$> 0,99$	
			2,453	$> 0,99$	homogeneidad
ET1 x Rubial de Liebana <sup>2</sup>	1,315	$> 0,99$			
ET82 x Alonso <sup>2</sup>	1,370	$> 0,99$			
ET82 x Recio de Baza <sup>2</sup>	0,166	$> 0,99$			
ET82 x Rubio de Córdoba <sup>2</sup>	2,298	$> 0,99$	1,263	$> 0,99$	
			3,886	$> 0,99$	homogeneidad
ET1 x Blanco de Corella <sup>3</sup>	1,400	0,90-0,80			
ET1 x Enano de Jaén <sup>3</sup>	1,569	$> 0,99$			
ET1 x Rubio de Córdoba <sup>3</sup>	7,947	$> 0,99$			
ET1 x Solacambre <sup>3</sup>	5,194	$> 0,99$	1,368	$> 0,99$	
			14,742	$> 0,99$	homogeneidad
ET1 x Blanco de Corella <sup>4</sup>	0,000	1			
ET1 x Solacambre <sup>4</sup>	3,993	$> 0,99$	0,546	0,98-0,95	
			3,447	$> 0,99$	homogeneidad

Tabla 41.- Pruebas de  $\chi^2$  para homogeneidad intra e inter-combinaciones, basadas en los patrones de asociación en MI.

2n =	F <sub>1</sub>		RS <sub>2</sub>		RS <sub>3</sub>		RS <sub>4</sub>		RS <sub>5</sub>	
	Número plantas	%	Número plantas	%	Número plantas	%	Número plantas	%	Número plantas	%
28	10	90,9	31	81,5	40	88,8	21	91,3	.2	100,0
29	1	9,1	6	13,1	5	11,2	2	8,7	0	0,0
30	0	0,0	1	5,4	0	0,0	0	0,0	0	0,0

Tabla 42.- Número y frecuencia de plantas, con 28, 29 y 30 cromosomas en el híbrido y sucesivas generaciones de retrocruzamientos de sustitución (RS<sub>n</sub>).

Los porcentajes de plantas con 28 cromosomas crecieron en cada generación, del primer al cuarto retrocruzamiento, - de la siguiente manera:

81,5% --> 88,8% --> 91,3% --> 100%

Las plantas de 29 y 30 cromosomas que aparecen en las - generaciones de retrocruzamiento proceden probablemente de - la fusión de gametos femeninos desequilibrados, con 15 ó 16 cromosomas, con gametos masculinos equilibrados, con 14 cromosomas.

En efecto, en la meiosis del parental femenino, el híbrido interespecífico y sucesivos retrocruzamientos de sustitución, hay asinapsis parcial hasta que se completa la sustitución cromosómica, formándose gametos equilibrados y desequilibrados. La meiosis del parental recurrente, salvo irregularidad espontánea, ha de ser normal, produciéndose gametos con 14 cromosomas. En consecuencia, tras la fecundación es posible la descendencia aneuploide aunque en menor grado que la euploide, por ser más funcionales los gametos equilibrados que los desequilibrados y dentro de éstos, más funcionales los desequilibrados por exceso.

La aparición de una planta, correspondiente a la  $F_1$  del híbrido interespecífico entre T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L. con 29 cromosomas, puede ser debida a asinapsis parcial o no-disyunción de bivalentes en la meiosis de una de las dos especies, más probablemente, por las razones antedichas, de la que hace de genitor femenino.

Se han detectado irregularidades meióticas espontáneas en trigos tetraploides tanto en T. Timopheevi Zhuk. como en T. turgidum L., en donde LILIENFELD y KIHARA (1934) detectaron que el 4,17% de las C.M.P. tenían de 1-4 univalentes.

#### 1.2.- Apareamiento en la primera metafase de la meiosis

En primer lugar se discutirán las observaciones que se repiten en todo el material, considerado en su conjunto, y en segundo lugar, aquellas que son características del proceso de sustitución cromosómica mediante retrocruzamientos reiterados.

##### 1.2.1.- Características comunes a todo el material estudiado.-

Son las siguientes:

- la presencia de univalentes, trivalentes y multivalentes,
- la heterogeneidad de los patrones de asociación cromosómica en las MI de cada planta,
- la estructura diferencial de los bivalentes, abiertos o cerrados.

A continuación se comentan estos tres aspectos considerados en general, y después se pasa a discutir los valores de apareamiento en el híbrido y sucesivos retrocruzamientos de sustitución.

##### 1.2.1.1.- Presencia de univalentes, trivalentes y multivalentes.-

Este es un hecho observado en el híbrido interespecífico T. Timopheevi Zhuk. x T. turgidum L. que se mantiene en algunos casos durante los siguientes retrocruzamientos:

Univalentes.- Su presencia depende del grado de afinidad del segundo genomio de las dos especies, B y B', que son homeólogos (LILIENFELD y KIHARA, 1934; KOSTOFF, 1936; LOVE, 1941; SEARS, 1948, 1956; SACHS, 1953; RILEY y col., 1958; WAGENAAR, 1961, 1966, 1970; FELDMAN, 1966; BOZZINI y GIORGI, 1969). El apareamiento ocasional entre ambos genomios depende de la diferenciación estructural e intragénica que ha tenido lugar en los procesos evolutivos de ambos genomios.

El número máximo de univalentes posibles en el híbrido - en el supuesto de una diferenciación total de ambos genomios será de 14 (7 de B + 7 de B'), pero de hecho el número observado es mucho menor, de 0,55 a 3,72 por MI en las nueve plantas estudiadas, lo que confirma la gran afinidad cromosómica existente entre T. Timopheevi Zhuk. y las variedades españolas de T. turgidum L. En la Tabla 43 se registran los valores observados por otros autores en híbridos entre T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L. de otras procedencias. Como quiera que los valores medios de univalentes por MI van desde 3,90 (SACHS, 1953) a 9,30 (WAGENAAR, 1961), y por tanto superiores a los observados en el material aquí presentado, queda claro la mayor afinidad de los T. turgidum L. españoles hacia T. Timopheevi Zhuk. que los extranjeros.

Trivalentes.- La presencia de los trivalentes se explica por la existencia de segmentos homólogos en cromosomas homeólogos. La observación de trivalentes en el híbrido F<sub>1</sub> entre T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L. y primeras generaciones de retrocruzamiento, se cree debida al apareamiento entre cromosomas de los genomios B y B'. Es un hecho comprobado la existencia de translocaciones y otras diferencias morfológi-

AUTOR	AÑO	♀	♂	I	II	III	IV	V
KOSTOFF	1937	T. Timopheevi	T. durum	?	9	?	?	?
SACHS	1953	T. Timopheevi	T. durum	3,90	10,55	1,00	-	-
		T. Timopheevi	T. turgidum	6,32	9,04	1,12	0,06	-
WAGENAAR	1961	T. Timopheevi	T. durum var. leucomelan	6,87	9,05	0,96	0,04	-
		T. Timopheevi	T. durum var. aputicum	6,77	8,84	1,16	0,02	-
		T. Timopheevi	T. durum var. murcienŕse	6,08	9,42	0,98	0,03	-
		T. Timopheevi	T. durum var. erythromel.	8,46	8,20	0,98	0,05	-
AGENAAR	1961	T. durum var. obscurum	T. Timopheevi	8,90	8,16	0,92	0,01	-
		T. durum var. melanopus	T. Timopheevi	6,38	9,12	0,96	0,10	0,02
		T. durum var. obscurum	T. Timopheevi	8,05	8,39	1,03	0,01	-
		T. durum var. STEWARD	T. Timopheevi	4,59	10,10	1,05	0,01	-
		T. durum var. affine	T. Timopheevi	6,35	9,18	1,05	0,03	-
		T. durum var. affine	T. Timopheevi	7,45	8,45	1,16	0,04	-
		T. durum var. leucurum	T. Timopheevi	4,83	9,85	1,08	0,06	-
		T. " var. reichenbachii	T. Timopheevi	7,07	8,93	1,00	0,02	-
		T. durum var. italicum	T. Timopheevi	6,98	8,85	1,07	0,02	-
		T. " var. provinciale	T. Timopheevi	7,42	8,88	0,94	-	-
		T. durum var. lybicum	T. Timopheevi	9,30	7,88	0,91	0,05	-
		T. durum cv. Ghiza	T. Timopheevi	4,14	10,18	1,12	0,03	-
		T. durum cv. Golden Ball	T. Timopheevi	8,11	8,37	1,03	0,02	-
		T. durum cv. Camadi	T. Timopheevi	7,51	8,01	1,40	0,04	0,02
		T. durum cv. Bald Medea	T. Timopheevi	7,12	8,94	1,00	-	-
		T. durum cv. Kahla	T. Timopheevi	4,73	10,05	1,05	-	-
GENAAR	1961	T. turgidum var. gentile	T. Timopheevi	6,13	8,51	1,38	0,11	0,02
		T. " var. megalopolitanum	T. Timopheevi	5,38	8,78	1,40	0,16	0,04
		T. " var. ramoso-megalop.	T. Timopheevi	5,92	9,20	1,09	0,04	0,01
		T. turgidum var. buccale	T. Timopheevi	5,32	8,37	1,60	0,25	0,03
		T. " var. salomonis	T. Timopheevi	6,09	8,50	1,39	0,18	-
		T. " var. pseudobuccale	T. Timopheevi	6,89	8,09	1,38	0,20	-
		T. " var. dreischianum	T. Timopheevi	5,66	8,38	1,22	0,25	0,17
		T. " var. speciosum	T. Timopheevi	6,31	9,33	0,96	0,04	-
		T. " var. pliniarum	T. Timopheevi	6,05	9,75	0,75	0,04	-
		T. turgidum var. dinurum	T. Timopheevi	6,11	8,82	1,40	0,18	0,07
		T. " var. rubrialbum	T. Timopheevi	7,60	7,91	1,20	0,20	0,03
		T. " var. melanotherum	T. Timopheevi	4,83	9,80	1,00	0,12	0,02

Tabla 43.- Apareamiento en híbridos T. Timopheevi Zhuk. x T. turgidum L. y  
T. turgidum L. x T. Timopheevi Zhuk., observado por varios auto-  
res (tratamiento taxonómico original).



cas menores en los cromosomas de T. Timopheevi Zhuk. con relación a los tetraploides más primitivos; WAGENAAR (1961) dedujo la existencia de al menos tres translocaciones y FELDMAN (1966), de cinco. BOZZINI y GIORGI (1969) observaron diferencias cariotípicas importantes entre las especies de T. Timopheevi Zhuk y T. turgidum L.

La baja frecuencia de univalentes, trivalentes y multivalentes en el material estudiado, indica que existen diferencias estructurales entre los cromosomas homeólogos de los genomas B y B', pero no son muy acusadas.

1.2.1.2.- Heterogeneidad de los patrones de asociación.- Es un hecho observado por muchos autores y repetido en el material aquí estudiado, que el apareamiento en MI de la meiosis en híbridos y anfiploides no es igual en todas las células analizadas, sino que se distribuye en más de un patrón de asociación. GAUL (1959) indicó que el apareamiento meiótico podía estar alterado por tres factores: homología entre los cromosomas, factores genéticos y factores ambientales. El control génico del apareamiento meiótico ha sido demostrado en numerosos trabajos, por ejemplo el sistema del brazo largo del cromosoma 5B (5B<sup>L</sup>), que impide el apareamiento homeólogo, habiéndose encontrado otros sistemas genéticos en el brazo corto del cromosoma 5B (5B<sup>S</sup>), y en los 5A, 5D y 3D (OKAMOTO, 1957; SEARS y OKAMOTO, 1958; RILEY, 1958; RILEY y CHAPMAN, 1958, 1967; FELDMAN, 1966; FELDMAN y MELLO-SAMPAYO, 1967; MELLO-SAMPAYO, 1971).

La influencia de factores ambientales sobre la microspogénesis fue comprobada por OEHLKERS et al. (1940). Otros -

autores han demostrado la influencia de la temperatura (DOWRICK, 1957; ABEL, 1963) y estado de desarrollo (MAAN y Mc CRACKEN, 1967).

Una tercera explicación al hecho de la heterogeneidad del apareamiento se deriva de la propia diferenciación estructural de los genomios apareantes. STEBBINS (1950) achacó las irregularidades meióticas observadas en los híbridos interespecíficos a la estructura de los cromosomas, lo que había sido ya observado por AASE (1946) y SEARS (1948).

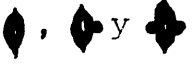
En el material estudiado no se rechaza la idea de una posible influencia ambiental, principalmente la temperatura, pero se cree que su efecto ha sido imperceptible por no observarse diferencias significativas en los resultados del apareamiento en C.M.P. de espigas de la misma planta fijadas en diferentes días, ni entre plantas de la misma combinación citoplásmico-nuclear sembradas en diferentes años, por ejemplo: entre las plantas 15-1, 15-2 y 15-3, cuyas fijaciones se hicieron en 1969, y la 34-1, fijada en 1970 (ver Tabla 5), ni entre las plantas 36-n, fijadas en 1970 y la 46-2, fijada en 1971 (ver Tabla 6), ni entre las 38-n, fijadas en 1970 y las 41-n, fijadas en 1971 (ver Tabla 7). Las condiciones de temperatura pudieron variar en las distintas fechas de fijación de espigas y aún en años diferentes, y también pudieron variar en las fechas de pemeiosis de las C.M.P. que es cuando parecen ser más sensibles (FELDMAN, 1966), pero dado que en los tres años mencionados las plantas se conservaron en invernadero hasta la floración, las variaciones ambientales no llegarían a afectar de modo perceptible el apareamiento meiótico.

Tampoco parece aplicable la idea de un sistema genético regulador del apareamiento entre B y B', ya que las plantas con 28 cromosomas poseen los cromosomas 5B y 5B', portadores de genes que impiden el apareamiento entre cromosomas homeólogos, pero no entre homólogos. Tampoco es aplicable en el material observado el sistema de regulación genética mediante poligenes propuesto por WAGENAAR (1961, 1966, 1970), dado el elevado apareamiento observado ya en el híbrido interespecífico entre T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L. WAGENAAR (1970) propuso un modelo de regulación del apareamiento mediante poligenes, achacando la inestabilidad meiótica del híbrido y sucesivos retrocruzamientos por T. Timopheevi Zhuk. al grado de heterocigosis en los loci poligénicos. Así, T. turgidum L. tendría el genotipo  $a_1a_1b_1b_1\dots$ , T. Timopheevi Zhuk. el  $a_2a_2b_2b_2\dots$ , el híbrido interespecífico el  $a_1a_2b_1b_2\dots$  (la homocigosis de cada parental se explica por el régimen autógamo de fecundación). La meiosis del híbrido sería irregular y en el retrocruzamiento por T. Timopheevi Zhuk. habría descendientes de genotipo  $a_2a_2b_2b_2\dots$  de meiosis regular,  $a_1a_2b_2b_2\dots$ ,  $a_2a_2b_1b_2\dots$ , etc. de meiosis intermedia y  $a_1a_2b_1b_2\dots$  de meiosis irregular. El apareamiento observado en el material aquí estudiado en la  $F_1$ , mostró valores medios de univalentes que van desde 0,55 hasta 3,72 entrando en la concepción de meiosis regular (0-1 univalentes por célula) ó intermedia (1-3 univalentes por célula) de WAGENAAR.

Como se ha dicho, WAGENAAR (1961) observó que los dos genomios B y B' estarían diferenciados estructuralmente en un mínimo de tres translocaciones, y FELDMAN (1966) achacó la diferenciación estructural a cinco translocaciones, mientras que BOZZINI y GIORGI (1969) al estudiar el cariotipo de los -

trigos tetraploides observaron diferencias entre los tamaños cromosómicos del grupo T. turgidum L. y T. Timopheevi Zhuk. Por todo ello, parece probable que la inestabilidad meiótica observada, manifestada en la variación de los patrones de - asociación, esté determinada por la diferenciación estructural entre los genomios B y B'.

#### 1.2.1.3.- Diferencias en la configuración de los bivalentes.-

Un hecho observado en la MI de todas las plantas estudiadas - es el de la existencia de diferencias en la morfología de los bivalentes. Así, se han observado bivalentes abiertos ( { ) y cerrados ( , lo que suscita dos cuestiones:

- a qué deben su estructura los bivalentes (a)
- qué significado tiene la relación II abiertos/número medio de II (b).

(a) La estructura depende del número y situación de los quiasmas de cada par de cromosomas apareados, y éstos a su vez dependen del grado de homología existente entre los cromosomas que aparean, de la longitud de cada par de brazos - apareados y del número de bivalentes formados en el entorno celular.

Los tipos de bivalentes observados se han clasificado en abiertos y cerrados, poseyendo uno ó dos quiasmas los abiertos y dos a cuatro los cerrados.

Para MATHER (1937) la probabilidad de formación del primer quiasma es independiente de la longitud del brazo apareante, pero para el siguiente quiasma entran en acción la longi-

tud disponible y la interferencia con el anterior. BOZZINI y GIORGI (1969) han observado diferencias cariotípicas entre los genomios de T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L. Estos dos hechos hacen probable que el número de quiasmas varíe de un bivalente a otro, ya que en los pares de cromosomas submetacéntricos habrá diferencia en la formación de quiasmas en los brazos cortos y largos.

(b) La relación II abiertos/número medio de II estudiada en todas las plantas es un índice de fijación de la homocigosis estructural. Cuanto mayor sea el grado de homología cromosómica existente, el apareamiento será más íntimo, y por tanto habrá mayor probabilidad de sobrecruzamiento. Por esto, dicha relación tiene un doble valor: absoluto, en el híbrido, por dar una estimación del grado de homología existente entre los genomios de T. turgidum L. y T. Timopheevi Zhuk., y relativo, durante el proceso de sustitución cromosómica por retrocruzamientos reiterados usando T. turgidum L. como polinizador, por indicar el grado de diploidización alcanzada al incrementarse el apareamiento homólogo (B con B) a costa del homólogo (B con B').

Los valores de la relación bivalentes abiertos a totales en los nueve híbridos estudiados van desde 0,10 a 0,41 lo que significa que el porcentaje de bivalentes cerrados por célula es de un 60 a un 90%, valores muy elevados que indican la gran afinidad existente entre los genomios apareantes.

La importancia de la relación indicada en el proceso de obtención de aloplasmia de T. turgidum L. sobre citoplasma de T. Timopheevi Zhuk., se discute en el apartado siguiente.

1.2.2.- Características propias de cada generación de retrocruzamiento.- A continuación se discuten los resultados del apareamiento en el híbrido interespecífico y en las sucesivas generaciones de retrocruzamiento.

1.2.2.1.- Apareamiento en el híbrido T. Timopheevi Zhuk. x T. turgidum L.- Como ya se ha mencionado anteriormente en esta iscusión, el apareamiento interespecífico ha sido más alto que el esperado si se toma como tal el observado por otros autores en híbridos de ambas especies (ver Tabla 43). SACHS (1953) observó 10 II en dichos híbridos al igual que WAGENAAR (1961), ninguno de los cuales incluyó en sus híbridos ninguna variedad española de T. turgidum L. Por ésto, se supone que los trigos duros españoles están más próximos del trigo primitivo origen de los tetraploides actuales que los de otras procedencias. - Esto se comprende si se piensa que los trigos españoles, que han entrado a través de Africa, vienen cultivándose desde hace cientos de años aisladamente del resto de los trigos europeos por la barrera geográfica pirenaica, acumulándose en la península y dando lugar al mantenimiento de formas indígenas más próximas a los tetraploides primitivos que los trigos del resto de Europa o los americanos, más diferenciados probablemente por su migración a zonas alejadas del centro de origen.

En la Figura 5 se representa el origen filogenético de los trigos duros españoles y extranjeros con relación a T. Timopheevi Zhuk.; las líneas trazadas no se deben tomar como medidas de distanciamiento evolutivo en sentido estricto, sino en sentido general.

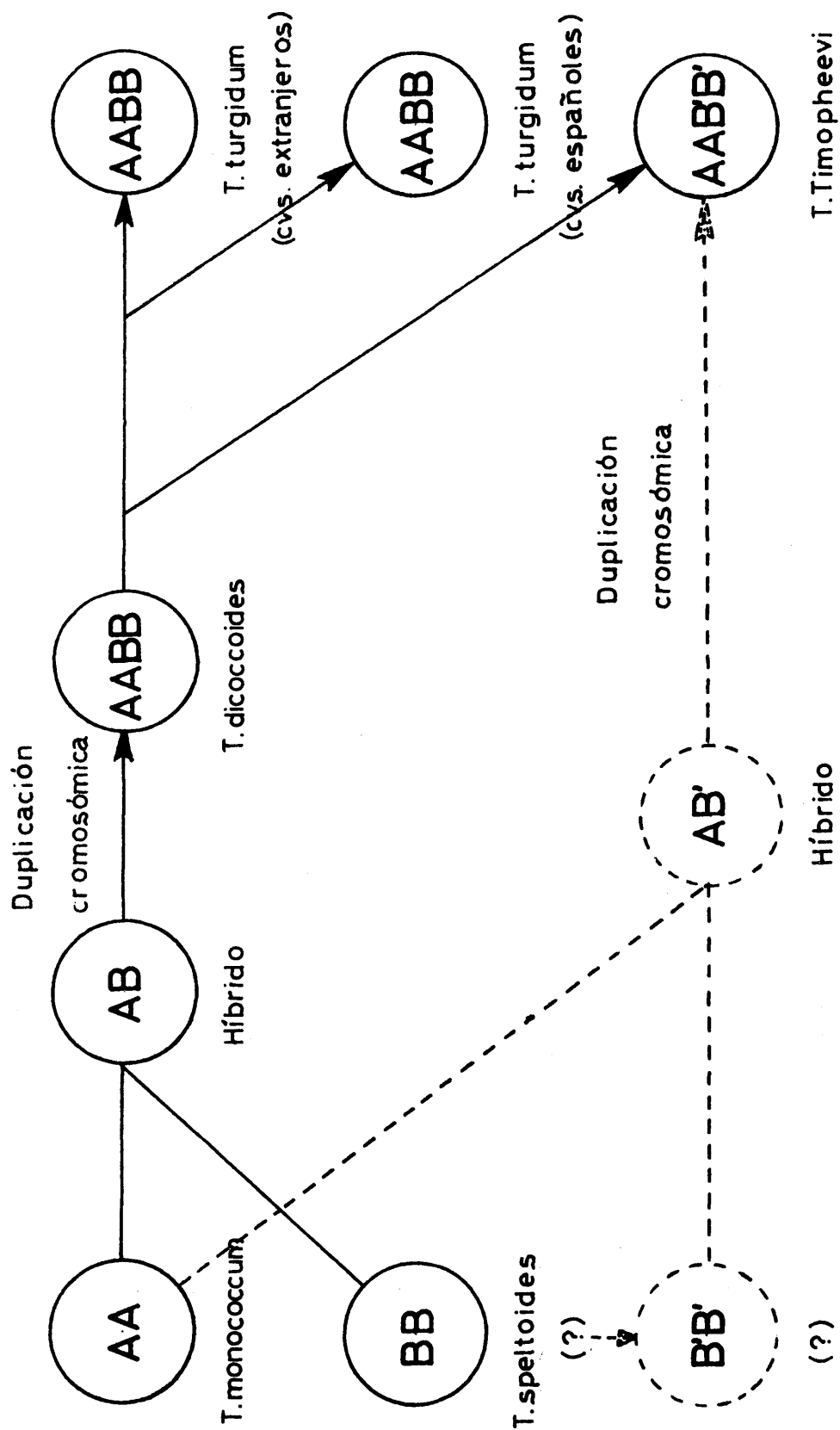


Figura 5.- Origen de los trigos tetraploides españoles y su situación filogenética con respecto a los extranjeros y T. Timopheevi Zhuk. El origen de T. Timopheevi Zhuk. puede explicarse alternativamente por dos vías.

GAUL (1959) criticó el método del estudio del apareamiento meiótico en la primera metafase como índice de la homología en los híbridos interespecíficos. Este método fue introducido por KIHARA y colaboradores, y con él se logró el establecimiento de las afinidades genómicas de los géneros Triticum L. y Aegilops L. (LILIENFELD, 1951; KIHARA, 1954, 1966). GAUL indicó que el apareamiento meiótico entre genomios homeólogos podría estar incluido no sólo por el grado de homeología sino también por factores de desarrollo, fisiológicos y génicos, y apuntó como más correcta la utilización de cualquier método - capaz de estimar el número posible de cromosomas capaces de - formar bivalentes. Tras unas consideraciones combinatorias estimó que el número de cromosomas capaces de aparear dependía parabólicamente del número de quiasmas (GAUL y MÜNZNER, 1955) y propuso la siguiente fórmula:

$$P = \frac{X^2 + X - B}{(2X - B)Z}$$

en donde p, X, B y Z son respectivamente el número de cromosomas que pueden aparear, el número total de quiasmas contados, el número de cromosomas apareados contados y el número total de células en que se ha llevado a cabo las observaciones.

La aplicación de esta fórmula a los nueve híbridos interespecíficos T. Timopheevi Zhuk. x T. turgidum L. estudiados aquí, arroja los resultados que se registran en la Tabla 44. Como se observa, el valor de p obtenido se parece más al número medio de cromosomas apareados observado que al número máximo observado, con la excepción de la meiosis de la planta 15-3 de 29 cromosomas. La fórmula parece tener sus limitaciones al aplicarla a este material, lo cual puede achacarse al



Planta número	2n =	X =	B =	Z =	p =	Núm. máx. de crom. apareados observados	Núm. medio total de II observados
15-1	28	1947	2356	95	25,94	28	24,80
15-2	28	607	642	25	25,76	28	25,68
15-3	29	557	685	25	29,02	29	27,40
34-1	28	287	316	13	24,54	28	24,27
5-1	28	535	624	25	25,66	28	24,96
1-1	28	2650	2665	100	26,65	28	26,65
1-2	28	1143	1135	45	25,22	28	25,22
11-1	28	618	710	30	24,19	28	23,68
11-3	28	2710	2742	100	27,42	28	27,45

Tabla 44.- Aplicación de la fórmula de GAUL a los 9 híbridos  
interespecíficos T. Timopheevi Zhuk. x T. turgidum L.

hecho de la existencia de diferencias en la longitud de los - brazos cromosómicos en las dos especies que intervienen en el híbrido, con hasta siete pares de cromosomas marcadamente submetacéntricos en T. Timopheevi Zhuk. y once pares en T. turgidum L. (GIORGI, 1964, 1966; GIORGI et al., 1967, 1968; GIORGI y BOZZINI, 1969 a, b, c; BOZZINI y GIORGI, 1969). Esto determinaría que la frecuencia de quiasmas es inferior en los brazos cortos que en los largos y no en ambos brazos igual, como condición necesaria, según postula la fórmula de GAUL. Por otra parte, el hecho de que el número de cromosomas con capacidad potencial de aparear sea aproximadamente igual al observado revaloriza estos últimos datos como una buena estimación del grado de homeología existente entre los genomios de las dos especies.

1.2.2.2.- Apareamiento en las generaciones de retrocruzamiento. - Los valores de apareamiento se elevan de generación en generación de retrocruzamiento, lo que se refleja en los siguientes datos:

- incremento del número medio de bivalentes
- descenso de la relación II abiertos/número medio de II
- incremento del número medio de quiasmas por MI.

La probabilidad de aparición de plantas con 7 pares de cromosomas del genomio A + 7 pares del genomio B (plantas con núcleo sustituido), crece a razón del doble de una generación de retrocruzamiento a la siguiente, según la forma:

$$RS_1 = 12,5\%; RS_2 = 25\%; RS_3 = 50\%; RS_4 = 100\%.$$

Ahora bien, si el apareamiento en el híbrido  $F_1$  entre T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L. muestra una alta estabilidad meiótica, el ritmo de crecimiento de la sustitución cromosómica será más rápido por aumentar el número de gametos equilibrados. Esto es lo que ocurre en el material aquí estudiado y en el que el número medio de bivalentes es muy alto ya en el híbrido.

El descenso de la relación II abiertos/número medio de II, es también en este caso una medida del grado de sustitución cromosómica en el proceso de los sucesivos retrocruzamientos. En efecto, cuando el núcleo de la forma obtenida sobre citoplasma de T. Timopheevi Zhuk. sea el de T. turgidum L., la principal causa de una posible alteración del apareamiento será la aloplasmia y parece demostrado, como ya se ha dicho, que, incluso en las formas aloplásmicas androestériles, el apareamiento meiótico no presenta diferencias con las formas autoplásmicas correspondientes (ALAM y SANDAL, 1957, en sorgo; SINGH y HADLEY, 1961, también en sorgo; KOBABE, 1958 y SAINI y DAVIS, 1969, en cebolla; SARVELLA y GROGAN, 1963 y JOPPA et al., 1966, en maíz; DUBEY y SINGH, 1965, en lino. Por lo tanto, la citada relación bajará conforme se vaya consiguiendo la sustitución cromosómica, lo que en el material estudiado sucede hacia el cuarto retrocruzamiento de sustitución.

Los mismos razonamientos utilizados para explicar el descenso del número de bivalentes abiertos con relación al número medio, sirven para explicar el incremento del número de quiasmas durante las generaciones de retrocruzamiento.

### 1.3.- Apareamiento homeólogo entre los genomios B y B'

El estado actual de conocimientos sobre el apareamiento entre los cromosomas de los genomios B y B' fue indicado con detalle en la Introducción. A continuación y a modo de resumen, se indican las dos alternativas consideradas para explicar la asinapsis parcial entre ambos genomios:

- la existencia de diferenciación cromosómica estructural entre ambos genomios (FELDMAN, 1966),
- un sistema genético que induce a asinapsis parcial en los híbridos que contienen ambos genomios (WAGENAAR, 1970).

Las dos hipótesis han sido manejadas indistintamente para explicar un hecho concreto, la asinapsis observada en la meiosis de los híbridos interespecíficos entre T. Timopheevi Zhuk. y el resto de los trigos tetraploides incluidos por BOWDEN en la especie T. turgidum L.

La especie T. Timopheevi Zhuk. procede probablemente de T. dicoccoides Körn., distribuido por Palestina y Siria, de la que algunas poblaciones quedarían aisladas geográficamente en las montañas del Cáucaso. Es posible la ocurrencia de mutaciones y cambios estructurales cromosómicos de los trigos que darían origen a nuevas formas separadas por barreras de esterilidad del resto de los trigos tetraploides extendidos por zonas más meridionales.

Los resultados obtenidos se pueden discutir a la vista de los siguientes puntos:

- se ha observado que cada cromosoma del genomio B aparee discriminadamente con un cromosoma del B' en 33 de las 42 plantas analizadas,
- la frecuencia de apareamiento discriminado en cada generación de retrocruzamiento fue la siguiente:

$$F_1 = 100\%; RS_1 = 80\%; RS_2 = 76,7\%; RS_3 = 85,7\%,$$

- para la estimación de los números de MI esperados y posteriores pruebas de significación para la estimación del tipo de apareamiento, se supuso que el número fijo de bivalentes era el número mínimo observado en la población celular analizada. Se desestimó la asinapsis espontánea por no observarse en plantas que alcanzaron la estabilidad meiótica total (14 bivalentes en todas las MI analizadas), o sea una vez conseguida la aloplasmia.

El hecho de que en el híbrido interespecífico entre T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L., de constitución cromosómica  $7A + 7A + 7B + 7B'$ , el apareamiento observado fuese discriminado en todas las plantas analizadas, parece ya suficiente para deducir la gran homeología existente, cromosoma a cromosoma, y que los cambios estructurales no afectan en gran manera el apareamiento.

En las generaciones de retrocruzamiento hay sustitución cromosómica, pero el grado en que se ha conseguido para cada planta, es imposible de averiguar; el mejor criterio para su estimación nos pareció que estaba en función del apareamiento meiótico mínimo observado, que muchas veces no coincide con el real. En las tres generaciones sucesivas de retrocru-

zamiento en que se discute el tipo de apareamiento entre B y B', surgieron cuatro plantas cuyos cromosomas apareaban - indiscriminadamente, y cinco casos dudosos.

Las cuatro plantas que apareaban indiscriminadamente - pertenecían tres al segundo retrocruzamiento y una al tercero. El número fijo de bivalentes estimado para cada caso como el número mínimo de bivalentes observados no parece una buena estimación para estas plantas, cabiendo la posibilidad de que sea inferior a éste, no habiéndose detectado en la población celular analizada ninguna MI con un número más bajo de bivalentes.

En la Tabla 45 se registran los resultados de la aplicación de los modelos matemáticos para un número constante de bivalentes inferior al mínimo observado con lo que el - apareamiento pasa a ser discriminado. Esto demuestra además que el número fijo de bivalentes (o sea el grado de sustitución cromosómica alcanzado) se puede estimar como igual o menor que el número mínimo de bivalentes observados en la - población celular analizada.

De las cinco plantas de apareamiento entre B y B', dudo- so, una de ellas, la 6-6, perteneciente al primer retrocru- zamiento de sustitución, y vuelto a aplicar el modelo mate- mático correspondiente a un número fijo de 10 bivalentes en lugar de 11, resultó que mostraba apareamiento discriminado.

Las cuatro plantas restantes, 6-1 de primer retrocruza- miento y 7-9, 7-14 y 7-18 de segundo, que mostraron una des- viación significativa para ambas hipótesis, mostraron un tri

FORMULA CITO- PLASMA-NUCLEO	PLANTA NUMERO	Nº medio total de II	Número fijo de II	Nº de MI estudia- das	P=	q =	Discrimi- nación >P>	Indiscri- minación >P>	Resultado
E72 x Rubio de Córdoba <sup>2</sup>	6-6	12,24	11	25	0,41333	0,62000	0,50-0,30	0,50-0,30	-
			10		0,56000	0,89600	0,20-0,10	0,20-0,10	-
			9		0,64800	>1	0,20-0,10	-	Discriminación
E71 x Exano de Jaén <sup>3</sup>	9-3	12,88	11	25	0,62666	0,94000	0,30-0,20	0,50-0,30	Indiscriminación
			10		0,72000	>1	0,50-0,30	-	Discriminación
E71 x Rubio de Córdoba <sup>3</sup>	36-9	12,52	11	25	0,56666	0,76000	0,70-0,50	0,80-0,70	Indiscriminación
			10		0,63000	>1	0,50-0,30	-	Discriminación
	36-11	13,04	12	25	0,52000	0,69333	0,20-0,10	0,30-0,20	Indiscriminación
			11		0,68000	>1	0,05-0,02	-	Discriminación
E71 x Solacambre <sup>4</sup>	38-3	13,32	12	25	0,66000	0,88000	0,50-0,30	0,95-0,90	Indiscriminación
			11		0,77333	>1	0,50-0,30	-	Discriminación

Tabla 45.- El tipo de apareamiento entre los genomios B y B' para un número fijo de II inferior al mínimo observado.

valente en casi todas las MI analizadas, presentando la última 29 cromosomas. Esto parece indicar la existencia de una - trisomía que tendría su origen en irregularidades meióticas habidas en la gametogénesis del parental femenino en los re- trocruzamientos de sustitución. Como el apareamiento entre - tres cromosomas no se realiza en toda su extensión, como - ocurre entre dos, por satisfacerse la fuerza de atracción para cada punto sólo entre dos cromosomas, aumenta la probabi- lidad de que el cromosoma extra encuentre segmentos homólo- gos originados durante el proceso de diferenciación cromosó- mica estructural por translocación, entre los demás cromoso- mas, pudiendo aparear indiscriminadamente.

Los resultados obtenidos una vez aplicados los modelos matemáticos para menor número fijo de bivalentes en las plan- tas que demostraron apareamiento discriminado, quedan como si- gue:

- 38 plantas demuestran un apareamiento discriminado entre B y B',
- 4 no son útiles por no existir una sustitución equili- brada de cromosomas.

A la vista de estos resultados, parece claro que la - existencia de pequeñas diferencias estructurales cromosómi- cas, detectadas en estudios cariológicos de los trigos tetra- ploidés (PATHAK, 1940; GIORGI, 1964, 1966; GIORGI et al., - 1967, 1968; GIORGI y BOZZINI, 1969 a, b, c; BOZZINI y GIORGI, 1969) y fitogenéticos del apareamiento meiótico (FELDMAN, - 1966) no son lo suficientemente importantes como para ser - responsables por sí solas de la asinapsis parcial existente



en los cruzamientos y retrocruzamientos entre T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L. Parece probable que haya habido también una diferenciación génica que afecte a genes o más posiblemente poligenes reguladores del apareamiento meiótico como ha supuesto WAGENAAR (1961, 1970), pero en el material aquí estudiado no se aprecian diferencias en el comportamiento citogenético por lo que no se puede hablar de segregación respecto al carácter regularidad en la meiosis. No obstante, este autor propone la denominación B para el segundo genomio de T. Timopheevi Zhuk. en lugar de G (LILIENFELD y KIHARA, 1934),  $\beta$  (KOSTOFF, 1936 y LOVE, 1941) o B' (FELDMAN, 1966), que se han venido utilizando indicando con ello una identidad total entre los segundos genomios de los dos grupos de trigos tetraploides.

Sin embargo, hay que tener en cuenta los hechos siguientes:

- hay diferencias en los patrones electroforéticos de ambos genomios, no así entre cultivares de cada grupo ( - JOHNSON, 1967),
- hay barreras de esterilidad en los híbridos interespecíficos que reúnen T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L., y que se traducen en androesterilidad en muchos casos (WILSON y ROSS, 1962),
- existen diferencias cariotípicas más acusadas entre T. Timopheevi Zhuk. y T. turgidum L. que entre taxones inferiores a especie dentro de cada grupo.

Estos tres hechos apuntados unidos a la asinapsis parcial en la meiosis de los híbridos entre ambas especies hacen preferible la utilización del símbolo B' para designar el segundo -

genomio de T. Timopheevi Zhuk.

## 2.- MORFOLOGIA DURANTE LOS RETROCRUZAMIENTOS DE SUSTITUCION

La adquisición de caracteres morfológicos de los trigos duros utilizados como polinizadores recurrentes es una consecuencia de la introgresión génica debida a la sustitución cromosómica. Los caracteres cualitativos estudiados se adquieren en gran manera en el híbrido y van aumentando en cada generación de retrocruzamiento. El fenotipo se va aproximando cada vez más al del cultivar utilizado como polinizador como consecuencia de la consecución de homocigosis en los loci reguladores de cada carácter. La homocigosis a su vez, se debe a que los cultivares utilizados de los trigos duros son prácticamente líneas puras por su reproducción autógama.

Llama la atención el hecho de que el color de las aristas en las formas aloplásmicas de los cultivares "Rubial de Liébana", "Rubio de Córdoba" y "Solacambre" sobre citoplasma ET1 y "Alonso" sobre citoplasma ET82, no corresponde al negro que les es propio, sino que se manifiesta como amarillo, como en T. Timopheevi Zhuk. Es de suponer una influencia del citoplasma, posiblemente debida a plasmagenes, que impide la manifestación del carácter regulado por genes nucleares en estos cuatro cultivares. El hecho de la no ocurrencia de este fenómeno en otros cultivares se supone debido a la diferente expresividad de los genes nucleares reguladores del carácter "color de las aristas", y en consecuencia la diferente interacción entre los plasmagenes y los mismos. Para las tres aloplasmias en que no se manifiesta el color negro de las aristas sobre ET1 y para la obtenida sobre citoplasma ET82, es de suponer una interacción plasmagenes-genes nucleares cuyo producto es la escasa expresividad de los últimos sobre un citoplasma extraño.

Los resultados obtenidos en los caracteres cuantitativos estudiados son de mayor interés al poder evaluar numéricamente la variación gradual durante el transcurso de las generaciones de retrocruzamientos de sustitución. Así, se ha observado un aumento del tamaño de la espiga (aumento de la longitud del raquis), aumento de la longitud de los artejos, aumento del número de espiguillas y disminución de la densidad de las espigas.

En la Tabla 46 se registran los datos obtenidos por SANCHEZ-MONGE (1957) para los once cultivares utilizados en las doce aloplasmias obtenidas, la validez de estos datos como controles del comportamiento del material aquí estudiado es relativa, por haberse tomado poblaciones cultivadas a distinta latitud (Zaragoza) y ser las condiciones ambientales diferentes. No obstante, se dan máximos y mínimos de datos recogidos durante cinco años consecutivos, y se da mayor importancia a la evolución del comportamiento de los caracteres cuantitativos durante las generaciones de retrocruzamiento que a la comparación con los cultivares indígenas españoles. A la vista de los resultados obtenidos y los registrados en la Tabla 46 se deducen los siguientes hechos:

- la longitud de la espiga parece ser mayor en las formas aloplásmicas estudiadas que en los correspondientes cultivares utilizados como polinizadores y sus híbridos por T. Timopheevi Zhuk., apreciándose este aumento de tamaño de la espiga ya desde las primeras generaciones de retrocruzamiento
- hay un mayor número de espiguillas en las formas aloplásmicas respecto a los polinizadores recurrentes e híbridos

CULTIVAR DE <u>T. turgidum</u> L.	LONGITUD MED. DEL RAQUIS	NUMERO MED. DE ESPIGUILLAS	LONGITUD MED. DE LOS ARTEJOS	DENSIDAD
Alonso	48,7-55,4	17,6-18,4	2,6-3,0	0,32-0,37
Alonso Pérez Jurado	54,6-63,4	18,7-19,8	2,8-3,2	0,30-0,36
Blanco de Corella	61,3-74,3	16,1-23,5	2,9-3,6	0,26-0,32
Enano de Jaén	52,3-55,4	19,6-23,2	2,3-2,6	0,35-0,42
Fartó Rubio	47,4-52,4	15,6-18,0	2,6-2,9	0,32-0,39
Las Palmas 7	52,1-56,6	15,5-15,6	3,0-3,6	0,27-0,29
Recio de Baza	52,2-66,7	18,7-22,7	2,4-2,9	0,33-0,38
Rubial de Liebana	63,4-74,2	19,4-23,2	2,8-3,2	0,29-0,34
Rubio de Córdoba	50,2-61,8	16,6-18,2	3,0-3,4	0,29-0,31
Rubión de Higuera	57,5-62,8	13,8-17,1	3,3-3,5	0,24-0,27
Solacambre	49,0-65,0	14,5-18,7	3,2-4,4	0,28-0,29

Tabla 46.- Datos cuantitativos de espigas correspondientes a los  
cultivares españoles utilizados (según SANCHEZ-MONGE,  
1957).

dos y polinizadores recurrentes, pero con las siguientes peculiaridades:

- (1) el aumento en el número de espiguillas está retrasado respecto al de la longitud de la espiga en - al menos una generación de retrocruzamiento; así en la aloplasmia ET82 x Alonso, el híbrido tiene una longitud de raquis mayor que el cultivar "Alonso", pero hasta el segundo retrocruzamiento no ocurre lo mismo con el número medio de espiguillas de la espiga
- (2) el aumento del número de espiguillas es menos acusado que el de la longitud del raquis como se deduce de la observación de los valores medios obtenidos para la longitud de los artejos y densidad de la espiga.

Los dos puntos anteriores se resumen en un aumento de - la longitud media de la espiga y en una laxitud de las mismas como expresión de la introducción de los genotipos españoles de T. turgidum L. utilizados sobre el citoplasma de T. Timopheevi Zhuk.

El alargamiento de las espigas de los trigos tetraploides utilizados al introducirlas en el citoplasma de T. Timopheevi Zhuk. es otra manifestación de la influencia del citoplasma sobre genomas extraños. Un efecto contrario, en el sentido de - producirse acortamiento del tamaño de la espiga de trigos duros de distinta procedencia a los utilizados aquí sobre cito-

plasma de T. Timopheevi Zhuk., fue observado por KRUPNOV y - KHRAMOVA (1970). No obstante SANCHEZ-MONGE (1973) ha observa do el mismo efecto de alargamiento de las espigas y aumento del número de espiguillas en aloplasmias de trigos sobre cito plasmas Timopheevi, caudata y ovata.

### 3.- FERTILIDAD

Los resultados sobre fertilidad masculina y floral se - pueden agrupar en tres condiciones:

- estériles,
- parcialmente fértiles,
- fértiles.

Es un hecho generalizado el que el citoplasma de T. Timo- pheevi Zhuk. induce androesterilidad cuando se le introducen - núcleos de otras especies de trigo por medio de retrocruzamien tos de sustitución, tanto de especies hexaploides, T. aestivum L. (WILSON y ROSS, 1962 a y b), como tetraploides, T. turgidum L. cult. durum Desf. (KIHARA, 1963; MAAN y LUCKEN, 1968; KRUP- NOV y KHRAMOVA, 1970) o T. turgidum L. cult. turgidum L. - (SANCHEZ-MONGE, 1970, 1973).

De los doce genotipos de trigos tetraploides españoles - utilizados, dos han mostrado un comportamiento androestéril so bre citoplasma de T. Timopheevi Zhuk. subsp. Timopheevi, y las diez restantes tuvieron un comportamiento relativamente normal. Esto demuestra que algunos genotipos españoles son restaurado- res en la fertilidad en la aloplasmia sobre citoplasma Timophe- evi. El hallazgo de los genes restauradores de la fertilidad en

una colección de trigos tetraploides introducidos mediante retrocruzamientos reiterados sobre el citoplasma androesterilizante Timopheevi, abre las puertas para la utilización de dichos genotipos como restauradores en la obtención de semilla híbrida.

La diferenciación citoplásmica de T. Timopheevi Zhuk., - respecto a su genitor ancestral, una forma de T. dicoccoides Körn., que originó también al resto de los trigos tetraploides, pudo surgir mediante una "mutación citoplásmica" que originaría los efectos androesterilizantes en los híbridos con otros trigos tetraploides (MAAN y LUCKEN, 1968; SUEMOTO, 1968).

#### 4.- CAUSAS DE LA ANDROESTERILIDAD

En primer lugar se discuten los resultados obtenidos en el estudio cito-histológico comparativo del desarrollo de las anteras, y en segundo lugar los relativos al contenido proteínico de las mismas. A continuación se tratará de encuadrar el - efecto androesterilizante del material aquí estudiado con los obtenidos en otras aloplasmias.

4.1.- Cito-histología del desarrollo de las anteras.- En la - histogénesis de las anteras de la forma aloplásmica androestéril ET82 x Alonso Pérez Jurado<sup>4</sup> con relación a la del cultivar español utilizado como polinizador recurrente, se han detectado algunas diferencias a nivel de las células del tapete, que se resumen a continuación:

- en la línea androestéril las células del tapete son -  
alargadas en sentido tangencial, frente a la forma cua

drada de la línea fértil

- en la línea androestéril la degeneración del tapete se realiza posteriormente al material fértil
- en la línea androestéril hay un ligero crecimiento de los núcleos de las células del tapete, frente a un de crecimiento en las células de la línea fértil.

De las dos primeras diferencias, relativas a la morfogénesis de las células del tapete, la primera no supone un efecto causante de la androesterilidad, sino más bien una simple consecuencia de la aloplasmia a nivel histológico. La segunda diferencia señalada implica la indehiscencia de las anteras. No obstante, la no funcionalidad del polen debe venir condicionada además por otros factores, y el problema debe tener una fuerte implicación bioquímica, ya que está en juego el destino de todo el sistema genético y enzimático de un tejido, que, - por su colocación inmediatamente próxima a las células esporógenas, influirá notablemente en la funcionalidad del polen. - Esto ha sido comprobado en los trabajos bioquímicos comparativos de FUKASAWA (1962) y otros autores (citados en la Introducción). Se han hecho trabajos sobre la relación entre el comportamiento bioquímico del tapete y la maduración del polen, así, CHANG (1954) en maíz androestéril indicó que un comportamiento anormal del tapete produciría una deficiencia en hidratos de carbono en los granos de polen; a una conclusión similar llegaron SINGH y HADLEY (1961) en sorgo androestéril y DUBEY y SINGH (1965) en lino.

La tercera diferencia observada, relativa al ligero crecimiento nuclear en las células del tapete de la línea androestéril, coincide con la observación de ZENKTELER (1962) en zanaho



ria y DUBEY y SINGH (1965) en lino androestéril. Sobre la base de este mismo comportamiento se supone que el papel más importante del tapete en el desarrollo de las anteras tendría lugar tras la formación de las tetradas, durante la maduración del polen.

4.2.- Contenido proteínico de las anteras.- Los resultados obtenidos dentro de cada línea estudiada y momento de recogida de muestras han demostrado la invalidez del método de almacenar anteras procedentes de diferentes flores de una misma espiga en un determinado momento de su maduración. Probablemente los cambios bioquímicos durante el desarrollo de las anteras son más rápidos que los habidos durante la maduración de la espiga en conjunto. Por esta razón se piensa como más acertado el reducir la cantidad de muestra utilizable en cada electroforesis a nivel de una flor, en lugar de espiga como se ha hecho aquí y en trabajos paralelos llevados a cabo por varios autores (FUKASAWA, 1954; ALAN y SANDAL, 1969). Para ello habría que recurrir a técnicas de microelectroforesis muy costosas de poner en práctica desde el punto de vista técnico.

4.3.- Grado de androesterilidad alcanzada.- De la revisión sobre las causas determinantes de la androesterilidad y los efectos de la misma se puede establecer una clasificación según el grado del efecto androesterilizante; se propone la siguiente clasificación:

- 1.- Androesterilidad morfológica.- Las anteras fallan en su desarrollo o se deforman dando lugar a pseudopistilos (KIHARA, 1951 y 1959; KIHARA y TSUNEWAKI, 1961, etc.).

2.- Androesterilidad cito-histológica.- En la que se pueden establecer dos tipos:

2.1.- Con fallo en la microsporogénesis de las C.M.P.-

Como en los casos en que la meiosis muestra gran asinapsis (LOE y SARVELLA, 1963); o en casos de hipertrofia de las C.M.P. antes de comenzar la meiosis (HUTCHINS, 1944); o en androesterilidad inducida por gametocidas (DAMON, 1961; ERICHSEN y ROSS, 1963).

2.2.- Con fallo en el desarrollo del tapete.- Habiéndose detectado tres formas de producirse dicho fallo:

2.2.1.- Degeneración precoz del tapete.- Lo que provoca una desorganización de las células esporógenas (CHAUHAN y SINGH, 1966).

2.2.2.- Formación de un periplasmodio a partir del tapete.- Poco antes de comenzar la meiosis las paredes de las células del tapete se desorganizan y sus contenidos se mezclan formando un periplasmodio. Esto obliga a una coalescencia de las C.M.P. en el centro de los sacos polínicos que terminan entremezclándose con el periplasmodio tapetal (MONOSCHMIDT, 1928; ARTSCHWAGER, 1947; ZENKTELER, 1962; DUBEY y SINGH, 1965; CHAUHAN y SINGH, 1966; TOKOMASU, 1970).

2.2.3.- Degeneración retrasada del tapete.- Es el menos drástico de los efectos androesterilizantes, permitiendo la microsporogénesis normal y la forma-

ción del polen, que puede alcanzar dos grados - de desarrollo:

2.2.3.1.- Polen carente de poro germinal. - Como consecuencia del fallo de la degeneración del tapete en el periodo crítico de su maduración (CHAUHAN y SINGH, 1966).

2.2.3.2.- Polen aparentemente normal. - No funcional (KRUPNOV y KHRAMOVA, 1970; CHU, LI, SHINJYO y LI, - 1972).

El orden que se ha establecido en la clasificación de los tipos de androesterilidad es como se ve de mayor a menor efecto esterilizante.

El material aquí estudiado se considera del último tipo, ya que el polen de la línea androestéril formada posee poro - germinal y hay degeneración retrasada del tapete. Esto parece indicar que las aloplasmias androestériles de los trigos tetraploides españoles sobre el citoplasma de T. Timopheevi Zhuk. ofrecen mejores posibilidades para la obtención de semilla híbrida que las obtenidas sobre otros citoplasmas (por ej.: sobre citoplasma caudata, en que se produce pistiloidía, KIHARA y TSUNEWAKI, 1961), ya que la androesterilidad además suele ir acompañada de un descenso de la funcionalidad gamética femenina, y por tanto a mayor efecto androesterilizante le corresponderá una menor fertilidad floral.

## V.- CONCLUSIONES

Las conclusiones que se derivan del trabajo realizado -compendian aspectos citogenéticos, evolutivos, morfológicos, y sobre fertilidad, en la consecución de formas aloplásmicas de T. turgidum L. ( ♂ ) sobre T. Timopheevi Zhuk. ( ♀ ):

- 1.- A la vista de los resultados sobre número cromosómico, a apareamiento meiótico y morfología de las distintas generaciones de cruzamientos de sustitución, se puede considerar alcanzada ésta tras la tercera generación de retro cruzamiento: T. Timopheevi Zhuk. x T. turgidum L.<sup>4</sup>
- 2.- El mayor apareamiento meiótico observado en los híbridos interespecíficos de T. Timopheevi Zhuk. por 12 cultivos de trigos tetraploides españoles que en híbridos con trigos tetraploides de otras procedencias (observados - por otros autores), y el corto número de generaciones de retrocruzamiento que son necesarias para alcanzar la estabilidad meiótica total, ponen de manifiesto el hecho - de que los trigos tetraploides españoles están más próximos a las formas primitivas que dieron origen a T. Timopheevi Zhuk. que el resto de los trigos tetraploides.
- 3.- El apareamiento entre los cromosomas de los genomiomas homólogos B y B' de T. turgidum L. y T. Timopheevi Zhuk., respectivamente, es discriminado, es decir cromosoma a - cromosoma, estando a favor de esta hipótesis la aplicación de unos modelos matemáticos propuestos para dilucidar el tipo de apareamiento. Esto parece indicar que en

los trigos tetraploides utilizados no hay una gran influencia sobre el apareamiento de los cambios estructurales que diferencian a ambas especies, no rechazándose la explicación de la inestabilidad meiótica en los híbridos interespecíficos por un sistema genético regulador del apareamiento entre ambos genomios (hipótesis de WAGENAAR, 1966, 1970), aunque en este material no se pueda aplicar.

- 4.- Se defiende el símbolo B' para designar el segundo genio de T. Timopheevi Zhuk. a la vista de los resultados del apareamiento en los híbridos interespecíficos y generaciones de retrocruzamiento.
- 5.- El caracter morfológico color de las aristas, que es negro en <sup>cuatro</sup> ~~tres~~ cultivares de trigos tetraploides españoles utilizados, se transforma en amarillo al conseguir la aloplasmia sobre T. Timopheevi Zhuk., lo que demuestra una influencia del citoplasma en la manifestación de algunos caracteres cualitativos.
- 6.- En las 12 formas aloplásmicas obtenidas, los trigos tetraploides muestran un alargamiento y una tendencia hacia laxitud de las espigas respecto a los híbridos interespecíficos y probablemente, a los cultivares utilizados como polinizadores recurrentes.
- 7.- Entre los cultivares españoles de trigos tetraploides existe diversidad genética respecto a genes de restauración de la fertilidad. Se han detectado únicamente dos

aloplasmas totalmente androestériles. En las demás, se detectan genes restauradores de posible utilización en la obtención de trigo híbrido.

8.- Las causas cito-histológicas de la androesterilidad están en la degeneración retrasada del tapete que rodea a las células esporógenas, con las implicaciones que supone el fallo de dicha degeneración en el periodo crítico de la maduración del polen.

9.- Se propone una clasificación de los efectos androesterilizantes y, con relación a ella, la androesterilidad por aloplasma aquí observada es la menos drástica, como lo indica:

- una microsporogénesis normal
- un desarrollo de las anteras que sólo se diferencia del de las formas fértiles por el retraso en la degeneración del tapete.
- un polen provisto de poro germinal, y
- una fertilidad femenina normal, como lo demuestra el hecho de la obtención de semilla cuajada en los cruzamientos.

## VI.- B I B L I O G R A F I A

AASE, H.C.

1946 Cytology of cereals. II. Bot. Rev., 12: 255-334

ABEL, W.O.

1963 Effect of emperature on recombination in Sphaerocarpus. Proc. XI Int. Cong. Genet., 1.

ALAM, S., and SANDAL, P.C.

1967 Cyto-histological investigations of pollen abortion in male-sterile sudangrass. Crop Science, 7: 587-589.

ALAM, S., and SANDAL, P.C.

1969 Electrophoretic analysis of anther proteins from male-fertile and male-sterile sudangrass, Sorghum vulgare v. sudanense (Piper). Crop Science, 9: 157-159.

ALLARD, R.W.

1949 A cytogenetic study dealing with the transfer of genes from T. Timopheevi to common wheat by backcrossing. J. Agric. Res., 78: 33-64.

ARTSCHWAGER, E.

1947 Pollen degeneration in male-sterile sugar-beet. Special reference to tapetal plasmodium. J. Agric. Res., 75: - 191-197.

AYCOCK, M.K., MANN, T.J., and MATZINGER, D.F.

1963 Investigations with a form of cytoplasmic male-sterility in flue-cured. Tobacco Science, 7: 130-135.

BHADURI, P.N., and GOSH, P.N.

1954 Chromosome squashes in cereals. Stain Tech., 29: 269-276

BOHN, G.W., and PRINCIPE, J.A.

1964 A second male-sterility gene in the muskmelon. J. Heredity, 55: 211-215.

BOROJEVIC, S.

1956 A note about the "New dates for recent cultivation of *Triticum monococcum* and *Triticum dicoccum* in Yugoslavia". Wheat Inf. Serv., 4: 1.

BOZZINI, A., and GIORGI, B.

1969 Karyotype analysis in *Triticum*. II. Analysis of *T. araraticum* Jakubz. and *T. Timopheevi* Zhuk. and their relationships with other tetraploid wheats. Caryologia, 22: 261-268.

BOWDEN, W.M.

1959 The taxonomy and nomenclature of the wheats, barleys and their wild relatives. Can. J. Bot., 37: 657-685.

BRITIKOV, E.A., and MUSATOVA, N.A.

1964 Accumulation of free proline in pollen. Soviet Plant Physiology, 11: 394-400.

BROOKS, M.H.

1962 Comparative analysis of some of the free amino acids in anthers of fertile and genetic cytoplasmic male sterile *Sorghum*. Genetics, 47: 1629- 1638.

CASPARI, E.

1948 Cytoplasmic inheritance. Adv. Genetics, 2: 1-66.

CHANG, T.T.

1954 Pollen sterility in maize. M.S. Thesis Cornell Univ. Ithaca, New York.



CHAUHAN, S.V.S., and SINGH, S.P.

1966 Pollen abortion in male-sterile hexaploid wheat (Norin -  
having *Aegilops ovata* L. cytoplasm). *Crop Science*, 6:  
532-535.

CHENNAVEERAI AH, M.S.

1960 Karyomorphologic and citotaxonomic studies in *Aegilops*.  
*Acta Horti. Gotoburgensis*, 23: 85-178.

CHU, Y.E., LI, Y.S., SHINJYO, C., and LI, H.W.

1972 Hybrid rice breeding. III. Cyto-histological investiga- -  
tion of pollen degeneration in anther of cytoplasmic ma -  
le-sterile plants. *Jap. J. Genetics*, 47: 179-183.

DAMON, E.C.

1961 Studies of the occurrence of multiploid sporocytes in -  
three varieties of cytoplasmic male-sterile and the nor-  
mal fertile variety, resistant wheatland Sorghum. *Phyton*,  
17: 193-203.

DARLINGTON, C.D., and LA COUR, L.F.

1952 The handling of chromosomes. George Allen & Unwin Ltd. Londres.

DEKAPRELEVICH, L.A., and MENABDE, V.L.

1932 Spelt wheats of Western Georgia (Western Transcaucasia).  
*Bull. Appl. Bot. Genet. Pl. Breed.*, 5: 35-46.

DI STEFANO, H.S.

1948 A cytochemical study of the Feulgen nucleal reaction. *Chromosoma*, 3: 288-301.

DUBEY, D.L., and SINGH, S.P.

1965 Mechanism of pollen abortion in three male-sterile lines  
of flax (*Linum usitatissimum* L.). *Crop Science*, 5: 121-124.

EAST, E.M.

1908 Imbreeding in corn. Rep. Connect. Agric. Exp. Sta., 1907:  
419-428.

EDWARSON, J.R.

1956 Cytoplasmic male-sterility. Bot. Rev., 22: 696-738.

ERICHSEN, A.W., and ROSS, J.G.

1963 Irregularities at microsporogenesis in colchicine-induced  
male-sterile mutants in *Sorghum vulgare* Res. Crop Science,  
3: 481-483.

ESCHRICK, W.

1961 Untersuchungen über den ab- und aufbau der callose. Z. -  
Bot., 49: 153.

ESCHRICH, W.

1964 Die callosesynthese bei pollenmutterzellen von *Cucurbita  
ficifolia*. En Linskens, H.F. (Ed.); Pollen Physiology and  
Fertility. North Holland Publ. Co., Amsterdam.

FELDMAN, M.

1966 Identification of unpaired chromosomes in  $F_1$  hybrids in -  
volving *Triticum aestivum* and *T. timopheevi*. Can. J. Ge -  
net. Cytol., 8: 144-156.

FELDMAN, M., and MELLO-SAMPAYO, T.

1967 Suppresion of homoeologous pairing in hybrids of poliploid  
wheats. X. *Triticum speltoides*. Can. J. Genet. Cytol., 9:  
307-313.

FEULGEN, R., and ROSSENBECK, H.

1924 Mikroskopisch chemister nachweis einer nucleinsäure vom  
typus der thymonucleinsäure. Hoppe. Seyl. Z., 135: 203-248.

FLAKSBERGER, C.A.

1929 Über künstliche und natürliche klassifikation des weizens.  
Fedde. Repert. Spec. Nov. Beih., 56: 102-123.

FORLANI, R.

1952 Proposta di revisione delle specie dei genere *Triticum*.  
Symp. Genet. Pavia, 3: 402-408.

FRANKEL, R., IZHAR, S., and NITSAN, J.

1969 Timing of callase activity and cytoplasmic male-sterility in *Petunia*. *Bioch. Genetics*, 3: 451-455.

FUKASAWA, H.

1953 Studies on restoration and substitution of nucleus in *Aegilotriticum*. I. Appearance of male-sterile durum in substitution crosses. *Cytologia*, 18: 167-175.

FUKASAWA, H.

1954 On the free amino acids in anthers of male-sterile wheat and maize. *Jap. J. Genetics*, 29: 135-139.

FUKASAWA, H.

1957 Studies on restoration and substitution of nucleus (genome) in *Aegilotriticum*, IV. Genome exchange between durum and ovata cytoplasm and its theoretical consideration for male-sterility. *Cytologia*, 22: 30-39.

FUKASAWA, H.

1962 Biochemical mechanism of pollen abortion and other alterations in cytoplasmic male-sterile wheat. *Seiken Zikô*, 13: 107-111.

GAINES, E.F., and AASE, H.C.

1926 A haploid wheat plant. *Amer. J. Bot.*, 13: 373-385.

GAUL, H.

1959 A critical survey of genome analysis. *Proc. 1st. Int. - Wheat Genet. Symp.*, 194-206.

GAUL, H. and MÜNZNER, H.

1955 Zur bestimmung der anzahl homologer chromosomen in art- und gattungsbastarden. Vortrag, 2, *Biometrisches Colloquium der Biometrischen Gesellschaft*. Bad. Nauheim: 28-30.

GIORGI, B.

1964 Analisi cariotipica di *Triticum durum* Desf. var. Cape -  
lli. *Genética Agraria*, 19: 179-183.

GIORGI, B., and BOZZINI, A.

1969 Karyotype analysis in *Triticum*. I. *Caryologia*, 22: 249-  
259.

GIORGI, B., and BOZZINI, A.

1969 Karyotype analysis in *Triticum*. III. *Caryologia*, 22: -  
279-288.

GIORGI, B., and BOZZINI, A.

1969 Karyotype analysis in *Triticum*. IV. *Caryologia*, 22: 289  
-306.

GIORGI, B., BOZZINI, A., e CARLUCCIO, F.

1967 Analisi cariotipica dei genomi A, B e D in *Triticum*. *Atti.*  
*Ass. Genet. Ital.*, 12: 426-427.

HESLOP-HARRISON, J.

1964 Cell, wall, cell membranes and protoplasmic connections  
during meiosis and pollen development. En Linskens, H.F.  
(Ed.); *Pollen Physiology and Fertilization*. North Holland  
Publ. Co., Amsterdam.

HUTCHINS, A.E.

1944 A male and female variant in squash, *Cucurbita maxima* -  
Duchesne. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 44: 494-496.

IZHAR, S., and FRANKEL, R.

1971 Mechanism of male-sterility in *Petunia*: The relationship  
between pH, callase activity in the anthers, and the -  
breakdown of the microsporogenesis. *Theoret. Appl. Gene-*  
*tics*. 41: 104-108.

JAKUBZINER, M.M.

1932 Contribution to the knowledge of wild wheat in Transcaucasia. Bull. Appl. Bot. Genet. Pl. Breed., 5: 147-198.

JAKUBZINER, M.M.

1947 On names on varieties and species of hard wheat. Selek. i Semen., 163: 40-46.

JAKUBZINER, M.M.

1959 New wheat species. Proc. 1st Int. Wheat Genet. Symp., - 207-220.

JOHNSON, B.L.

1967 Tetraploid wheats: seed protein electrophoretic patterns of Emmer and Timopheevi group. Science, 158: 131-132.

JONES, D.F.

1918 The effects of inbreeding upon development. Bull. Connect. Agr. Exp. Sta., 207: 5-100.

JONES, H.A., and CLARKE, A.E.

1943 Inheritance of male-sterility in the onion and the production of hybrid seed. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 43: 189.

JOPPA, L.R., MCNEAL, F.H., and WELSH, J.R.

1966 Pollen and anther development in cytoplasmic male-sterile wheat. Crop Science, 6: 296-297.

KHOO, U., and STINSON, H.T.

1957 Free amino acid differences between cytoplasmic male-sterile and normal fertile anthers. Proc. Nat. Acad. Sci., - 43: 603-607.

HIHARA, H.

1919 Uber cytologische studien bei einigen getreidearten. I. - species bastarde des weizens und weizenroggen-bastarde. - Bot. Mag. (Tokyo), 33: 17-38.

KIHARA, H.

1924 Cytologische und genetische studien wichtigen getrei -  
dearten mit besonderer rucksicht auf das verhalten der  
chromosomen und die sterilitat in der bastarden. Mem. -  
Coll. Sci., Kyoto Imp. Univ., Ser. B., 1-200.

KIHARA, H.

1927 Uber die vorvehandlung einiger pflanzlicher objecte bei  
der fixierung der pollenmutterzellen. Bot. Mag. (Tokyo),  
41: 124-128.

KIHARA, H.

1944 Die entdeckung der DD-analysatoren beim weizen. Agr. and  
Hort. (Tokyo), 19: 889-890.

KIHARA, H.

1951 Substitution of nucleus and its effects on genome manifes-  
tations. Cytologia, 16: 177-193.

KIHARA, H.

1954 Considerations on the evolution and distribution of Aegi-  
lops species based on the analyzer-method. Cytologia, 19:  
336-357.

KIHARA, H.

1959 Fertility and morphological variation in the substitution  
and restoration backcrosses of the hybrids *Triticum vulga*  
*re* x *Aegilops caudata*. Proc. Xth Int. Congr. Genet., 142-  
171.

KIHARA, H.

1963 Nucleus and chromosome substitution in wheat and *Aegilops*.  
II. Seiken Zihô, 15: 13-23.

KIHARA, H.

1966 Factors affecting the evolution of common wheat. Ind. J.  
Genetics, 26a: 14-28.

KIHARA, H.

- 1969 Cytoplasmic relationships in the Triticinae a review. -  
Proc. III Int. Wheat Genet. Symp., 125-134.

KIHARA, H., and TSUNEWAKY, K.

- 1961 Pistilloidy of *Triticum durum* induced by an alien cyto -  
plasm. *Seiken Zihô*, 12: 1-20.

KISS, A.

- 1956 A study of (*Triticum timopheevi* x *T. durum*) x *T. aesti -*  
*vum* hybrids. *Pl. Ind. Res., Monsonmagyarovar*, 4: 121-130.

KOBABE, G.

- 1958 Entwicklungsgeschichtliche und genetische untersuchungen  
an neuen männlich sterilen mutanten der küchenzwiebel (*A -*  
*llium cepa*). *Z. Pflanzenzücht.*, 40: 351-384.

KOSTOFF, D.

- 1936 Studies on the poliploid plants. X. Amphiploid *Triticum*  
*timopheevi* Zhuk. x *Triticum monococcum*. *L. Compt. Rend.*  
*Acad. Sci. S.S.S. R 1 (X)*, 1: 37-41.

KOSTOFF, D.

- 1936 The genomes of *T. timopheevi* Zhuk., *Secale cereale* L., and  
*Haynaldia villosa* Schur. *Z. Induktt. Abstamm-u Vererbungs*  
*lehre*, 72: 115-118.

KOSTOFF, D.

- 1937 Chromosome pairing in *Triticum* hybrids and allien genera.  
I. Interspecific hybrids with *Triticum timopheevi*. *Proc.*  
*Ind. Acad. Sci.*, 5: 231-236.

KRUPNOV, V.A., and KHRAMOVA, N.A.

- 1970 The influence of *Triticum timopheevi* cytoplasm on the ma -  
nifestations of *Triticum durum* genome. *РЕНЕТКА*, 4: 317-  
323.

KUCKUCK, H.

1964 Experimentelle untersuchungen zur entstehung der kultur-  
weizen. I. Die variation des iranischen spelzweizens und  
seine genetischen beziehungen zu *Triticum aestivum* ssp.  
vulgare (Vill. Host.) MK, ssp. *spelta* (L.) Thell. und ssp  
macha (Dek. and Men.) MK. mit einem beitrage zur genetik  
des *spelta*-komplexes. Z. Pflanzenzücht., 51: 97-140.

KURNICK, N.B.

1955 Pyronin Y in the methyl-green-pyronin histological stain.  
Stain Tech., 30: 213-230.

LA COUR, L.F.

1944 Mitosis and cell differentiation in the blood. P.R.S., E-  
din., 62: 73-85.

LACADENA, J.R.

1968a Cytoplasmic male-sterility. A proposal on its terminolo-  
gy. Genét. Ibérica, 20: 1-7.

LACADENA, J.R., and RAMOS, A.

1968 Meiotic behaviour in a haploid plant. Genét. Ibérica, 20:  
55-71.

LESSLER, M.A.

1951 The nature and specificity of the Feulgen reaction. Arch.  
Bioch. Biophysics, 32: 42-54.

LILIENFELD, F.

1951 Genome-analysis in *Triticum* and *Aegilops*. X. Concluding  
review. Cytologia, 16: 101-123.

LILIENFELD, F., and KIHARA, H.

1934 Genomeanalyse bei *Triticum* und *Aegilops*. V. *Triticum timo*  
*pheevi* Zhuk. Cytologia, 6: 87-122.



LIVERS, R.W.

1964 Fertility restoration and its inheritance in cytoplasmic male-sterile wheat. Science, 144: 420.

LOE, B. and SARVELLA, P.

1963 Male-sterility caused by abnormalities in meiosis.

LOVE, R.M.

1941 Chromosome behaviour in  $F_1$  wheat hybrids. I. Pentaploids. Can. J. Res., 19c: 351-369.

MAAN, S.S., and LUCKEN, K.A.

1968 Cytoplasmic male-sterility and fertility restoration in - Triticum L. Proc. III Int. Wheat Genet. Symp., 135-140.

MAAN, S.S., and McCRACKEN, E.U.

1968 Meiotic instability on common wheat strains derived from Triticum Timopheevi Zhuk. crosses. Euphytica, 17: 445-450.

MAC KEY, J.

1954b The taxonomy of hexaploid wheat. Svensk Bot. Tidskr., 48: 579-590.

MAC KEY, J.

1966 Species relationship in Triticum. Proc. II Int. Wheat - Genet. Symp., Hereditas Suppl., 2: 237-276.

MAINS, E.B.

1933 Host specialization of Erysiphe graminis tritici. Croc. Nat. Acad. Sci., 19: 49-52.

MAKUSHINA, E.N.

1938 A new species of wheat, Triticum armeniacum (Jakubz.) sp. n. Compt. Rend. (Doklady) Acad. Sci. U.R.S.S., 21: 345-348.

MANN, T.J., JONES, G.L., and MATZINGER, D.F.

1962 The use of cytoplasmic male-sterility in flue-cured tobacco hybrids. Crop Science, 2: 407-410.

MATHER, K.

1937 The determination of position in crossing-over. II. The chromosome length-chiasma frequency relation. *Cytologia*, 1: 514-526.

MATSUMURA, S.

1951 Genetics of some cereals. *Ann. Rep. Inst. Genet. Jap.*, 1: 22-27.

McFADDEN, E.S., and SEARS, E.R.

1944 The artificial synthesis of *Triticum spelta*. *Rec. Genet. Soc. Amer.*, 13: 26-27.

MELLO-SAMPAYO, T.

1971 Genetic regulation of meiotic chromosome pairing by chromosome 3D of *Triticum aestivum*. *Nat. New Biology*, 230: 22-23.

MICHAELIS, P.

1933 Entwicklungsgeschichtlich-genetische untersuchungen an *Epilobium*. II. Die bedeutung des plasmas für die pollen-fertilität des *Epilobium luteum* - *hirsutum* - *bastardes*. *Z. Vererbungs.*, 65: 1-71, 353-411.

MICHAELIS, P.

1954 Cytoplasmic inheritance in *Epilobium* and its theoretical significance. *Adv. Genetics*, 6: 287-401.

MICHAELIS, P.

1959 Cytoplasmic inheritance and the segregation of plasmagenes. *Proc. X. Int. Cong. Genetics*, 1: 375-385.

MICHAELIS, P.

1965 II. The occurrence of plasmon-differences in the genus *Epilobium* and the interactions between cytoplasm and nuclear genes (a historic survey). *The Nucleus*, 8: 93-108.

MICHAELIS, P.

1966 The proof of cytoplasmic inheritance in *Epilobium* (a historical survey as example for the necessary proceeding).  
The Nucleus, 9: 1-16.

MICHAELIS, P.

1966 The sum of plasmos constituents and the plasmos analysis.  
The Nucleus, 9: 103-118.

MICHAELIS, P.

1967 The segregation of plastids as an example of plasmon analysis. The Nucleus, 10: 111-127.

MORRIS, R., and SEARS, E.R.

1966 The cytogenetics of wheat and its relatives. En Wheat and Wheat Improvement. Quisenberry, K.S., and Reitz, L.P., -  
(Ed.). Madison.

NEVSKI, S.A.

1934 Tribe Hordeae Benth. En V.L. Kpmarov, Flora U.S.S.R., vol.  
2. Leningrado.

NILSSON-EHLE, H.

1911 Mendelisme et aclimatation. Ext. IV Conf. Int. Genet., 1-22.

OEHLKERS, F.

1940 Meiosis und crossing-over. Biol. Zentralblatt, 60: 337-  
348.

OKAMOTO, M.

1957 Asynaptic effect of chromosome V. Wheat Inf. Serv., 5:6.

OKAMOTO, M.

1962 Identification of the chromosomes of common wheat belonging to the A and B chromosomes. Can. J. Genet. Cytol., -  
4: 31-37.

O'MARA, J.C.

1948 Acetic acid method for chromosome studies at prophase and metaphase in meristems. Stain Tech., 23: 201-204.

ÖSTERGREN, G.

1944 Colchicine mitosis, chromosome contraction, narcosis and protein chain folding. Hereditas, 30: 429-467.

OZAKI, K., and TAI, K.

1961 Nitrogen metabolism of paddy rice at heading. I. Free proline in the pollens. Soil Plant Food, 6: 184-185.

PATHAK, G.N.

1940 Studies in the cytology of cereals. J. Genetics, 39: 437-467.

PATIL, V.P., and DEODIKAR, G.B.

1964 Fertility and chromosome behaviour in hybrids and backcrosses of *T. timopheevi* with *T. dicoccum*. Ind. J. Genet. - Plant Breed., 24: 9-14.

PERCIVAL, J.

1921 The wheat plant, a monograph. Duckworth and Co., Ltd., London.

PETO, F.H.

1936 Hybridization of *Triticum* and *Aegilops*. II. Can. J. Res., 14: 203-214.

PRIDHAM, J.T.

1939 A successful cross between *Triticum vulgare* and *Triticum timopheevi*. J. Australian Inst. Agr. Sci., 5: 160-161.

RILEY, R.

1958 Chromosome pairing and haploids in wheat. Proc. X Int. - Cong. Genet., 2: 234-235.

RILEY, R., and CHAPMAN, V.

1957 Haploids and polihaploids in Aegilops and Triticum. Heredit  
ity, 11: 195-207.

RILEY, R., and CHAPMAN, V.

1958 Genetic control of the cytologically diploid behaviour -  
of hexaploid wheat. *Nature*, 182: 713-715.

RILEY, R., and CHAPMAN, V.

1966 Estimates of the homeology of wheat chromosomes by measure  
ments of differential affinity at meiosis. In *Chromosomes Manipulation and Plant Genetics*. Riley, P., and Lewis, K.R. (Ed.). Edimburgo.

RILEY, R., and CHAPMAN, V.

1967 Effect of  $5B^S$  in suppressing the expression of altered -  
dosage of  $5B^L$  on meiotic pairing in *Triticum aestivum*. -  
*Nature*, 16: 60-62.

RILEY, R., UNRAU, J., and CHAPMAN, V.

1958 Evidence on the origin of the genome B of wheat. *J. Heredit*  
ity, 49: 90-98.

ROBERTSON, L.D., and CURTIS, B. C.

1967 Monosomic analysis of fertility-restoration in common -  
wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop Science*, 7: 493-495.

SACHS, L.

1953 Chromosome behaviour in species hybrids with *T. timopheevii*. *Heredit*  
ity, 7: 49-58.

SAINI, S.S., and DAVIS, G.N.

1969 Male-sterility in *Allium cepa* and some species hybrids.  
*Economic Botany*, 23: 37-49.

SAKAMURA, T.

1918 Kurze mitteilung uber die chromosomenzahlen und die verwandtschaftsverhaltnisse der Triticum-arten. Bot. Mag. (Tokyo), 32: 151-154.

SANCHEZ-MONGE, E.

1957 Catálogo Genético de Trigos Españoles. Publ. Min. Agricultura. Madrid.

SANCHEZ-MONGE, E.

1968a Approaches to hybrid wheat in Spain. Euphytica, 17, Suppl., 1: 35-41.

SANCHEZ-MONGE, E.

1968c Use of male-sterility in plant breeding. Proc. XII Int. Cong. Genet., 2: 224-225.

SANCHEZ-MONGE, E.

1970 Efectos de la aloplasmia en trigos cultivados. Comunicación VII Jornadas de Genética Luso-Españolas. Pamplona.

SANCHEZ-MONGE, E.

1971 La androesterilidad vegetal y su utilización. Discurso de ingreso en la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Madrid.

SANCHEZ-MONGE, E.

1973 Aloplasmia en vegetales. Melhoramento (en prensa).

SARKAR, P., and STEBBINS, G.L.

1956 Morphological evidence concerning the origin of the B genome in wheat. Amer. J. Bot., 43: 297-304.

SARVELLA, P., and GROGAN, C.O.

1963 Morphology, cytology and biochemistry of male-sterile lines of maize. Proc. IX Int. Cong. Genet., 1: 204-205.

SARVELLA, P., STOJANOVIC, B.J., and GROGAN, C.O.

1967 Amino acids at different growth stages in normal male-sterile and restored maize (*Zea mays* L.). *Z. Pflanzenzücht.*, 57: 361-370.

SAX, K.

1922 Sterility in wheat hybrids. II. Chromosome behaviour in - partially sterile hybrids. *Genetics*, 7: 513-552.

SCHIEMAN, E.

1948 Weizen, roggen, gerste. Systematik, geschichte und verwen dung. Verlag G. Fischer, Jena.

SCHULZ, A.

1913 Die geschichte der kultivierten getreide. L. Neberts Verlag, Halle a.d.s.

SEARS, E.R.

1939 Cytogenetic studies with poliploid species of wheat. I. - *Genetics*, 24: 509-523.

SEARS, E.R.

1947 The sphaerococcum gene in wheat. *Genetics*, 32: 102-103.

SEARS, E.R.

1948 Cytology and genetics of the wheats and they relatives. - *Adv. Genetics*, 2: 239-270.

SEARS, E.R.

1956 The systematics, cytology and genetics of wheat. En Handbuch der Pflanzenzüchtung, Kappert, H., and Rudorf, W. - (Ed.). Berlín y Hamburgo.

SEARS, E.R., and OKAMOTO, M.

1958 Intergenomic chromosome relationships in hexaploid wheat. *Proc. X Int. Cong. Genet.*, 2: 258-259.

SHANDS, R.G.

1941 Disease resistance of *Triticum timopheevi* transferred to common winter wheat. J. Amer. Soc. Agron., 33: 709-712.

SHARMA, A.K., and SHARMA, A.

1965 Chromosome Techniques, Theory and Practice. Butterworths. Londres.

SHULL, G.H.

1909 A pure line method of corn breeding. Amer. Breed. Ass. - Rep., 5: 51-59.

SIMONET, M., et CHESNEAUX, M.T.

1954. Etude cytogenétique de deux céréales haploïdes. Comp. - Rend., 238: 147-149.

SINGH, S.P., and HADLEY, H.H.

1961 Pollen abortion in cytoplasmic male-sterile Sorghum. Crop Science, 1: 430-432.

SINGH, H.B., ANDERSON, E., and PAL, B.P.

1957 Studies in the genetics of *Triticum vavilovi* Jakubz. A - gronomy J., 49: 4-11.

SMITH, S.G.

1943 Techniques for the study of insect chromosomes. Can. Entom., 75: 21-34.

SPIEGEL, M.R.

1969 Teoría y Problemas de Estadística. McGraw-Hill. Mexico.

STEBBINS, G.L.

1956 Taxonomy and the evolution of genera, with special reference to the family Gramineae. Evolution, 10: 234-245.

STEPHENS, J.C., and HOLLAND, R.F.

1954 Cytoplasmic male-sterility for hybrid Sorghum seed production. Agronomy J., 46: 20-23.



SUEMOTO, H.

1968 The origin of the cytoplasmic of tetraploid wheats. Proc. 3th Int. Wheat Genet. Symp., 141-142.

SVETOZAROVA, V.V.

1939 Second genome of Triticum Timopheevi Zhuk. Comp. Rend. (Doklady) Acad. Sci. U.R.S.S., 23: 473-477.

SWIFT, H.

1955 The nucleic acids. Chemistry & Biology, Academic Press. New York.

TAHIR, Ch. M., and TSUNEWAKI, K.

1969 Monosomic analysis of Triticum spelta var. duhamelianum, - a fertility-restorer for T. timopheevi cytoplasm. Jap. J. Genetics, 44: 1-9.

TOKUMASU, S.

1970 Comparison of anther and pollen development between male-sterile diploid and male-fertile tetraploid in Pelargonium roseum. Jap. J. Breed., 20: 211-218.

TSUNEWAKI, K.

1963 Analysis of the fertility-restoring gene in Triticum aestivum ssp. compactum. Seiken Zihô, 15: 47-53.

TSUNEWAKI, K.

1969 A proposal for designation of nucleus-substitution lines - and fertility-restoring genes in wheat. Seiken Zihô, 21: 27-30.

UNRAU, J.

1950 The use of monosomics and nullisomes in cytogenetic studies in common wheat. Sci. Agric., 30: 66-89.

VAVILOV, N.J.

1926 Studies on the origin of cultivated plants. Trudy Byuro - Prikl. Bot., 16: 139-248.

WAGENAAR, E.B.

1961a Cytological studies of the development of metaphase I in hybrids between *Triticum Timopheevi* Zhuk. and *T. durum* - Desf. Can. J. Bot., 39: 81-108.

WAGENAAR, E.B.

1961 Studies on the genome constitution of *Triticum Timopheevi* Zhuk. I. Evidence for genetic control of meiotic irregularities in tetraploid hybrids. Can. J. Genet. Cytol., 3: - 47-60.

WAGENAAR, E.B.

1966 Studies on the genome constitution of *Triticum Timopheevi* Zhuk. II. The *T. Timopheevi* complex and its origin. Evolution, 20: 150-164.

WAGENAAR, E.B.

1970 Studies on the genome constitution of *Triticum Timopheevi* Zhuk. III. Segregation of meiotic chromosomes behaviour in backcrosses generations. Can. J. Genet. Cytol., 12: - 347-355.

WAKAR, B.A.

1935 Cytologische untersuchungen der ersten generation der weizen queckenbastarde. Züchter, 7: 199-206.

WARMKE, H.E., and OVERMAN, M.A.

1972 Cytoplasmic male-sterility in *Sorghum*. J. Heredity, 63: - 103-108.

WATERKEYN, L.

1964 Callose microsporocyttaire et callose pollinique. En Linskens, H.F. (Ed.); Pollen Physiology and Fertility. North - Holland Publ. Co., Amsterdam.

WILSON, J.A., and ROSS, W.M.

1962 Male-sterility interaction of the *Triticum aestivum* nucleus and *Triticum timopheevi* cytoplasm. *Wheat Inf. Serv.*, 14: 29-30.

WILSON, J.A., and ROSS, W.M.

1962b Cross breeding in wheat, *Triticum aestivum*. II. Crop Science, 2: 415-417.

ZENKTELER, M.

1962 Microsporogenesis and tapetal development in normal and male-sterile carrots (*Daucus carota*). *Amer. J. Bot.*, 49: 341-348.

ZHUKOVSKY, P.M.

1923 Ein wilder Emmer in Georgien. *Ber. d. Tifl. Bot. Gard.*, - III. U.S.S.R.

ZHUKOVSKY, P.M.

1928 A new species of wheat. *Bull. Appl. Bot.*, 19: 59-66.

ZHUKOVSKY, P.M.

1944 Studies on hybridization and immunity of plants. *Proc. Timiriazev Agr. Acad.*, 6: 1-48.

ZOHARY, D., and FELDMAN, M.

1962 Hybridization between amphidiploids and the evolution of polyploids in the wheat (*Aegilops-Triticum*) group. *Evolution*, 16: 44-61.

ZOHARY, D.

1970 Wild wheats. *Genetic Resources in Plants*, Frankel, C.H., and Bennett, E. (Ed.). Blackwell Scientific Publ. - Oxford y Edimburgo.